

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
(PCT18条、PCT規則43、44)

出願人又は代理人 の書類記号 A011-05PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/05545	国際出願日 (日.月.年) 18.08.00	優先日 (日.月.年) 27.08.99
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第三欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10, A61K38/17, A61K45/00,
A61P25/28, G01N33/53, A01K67/027

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10, A61K38/17, A61K45/00,
A61P25/28, G01N33/53, A01K67/027

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	Okuda, T. et al. "Identification and characterization of the high-affinity choline transporter" Nal. Neurosci. (2000) Vol. 3 No. 2 P. 120-125	1-60, 62, 63
X	Knipper, M. et al. "Purification and reconstitution of the high affinity choline transporter" Biochimica et Biophysica Acta (1991) Vol. 1065 No. 2 P. 107-113	1-60, 62, 63

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 10.11.00

国際調査報告の発送日

21.11.00

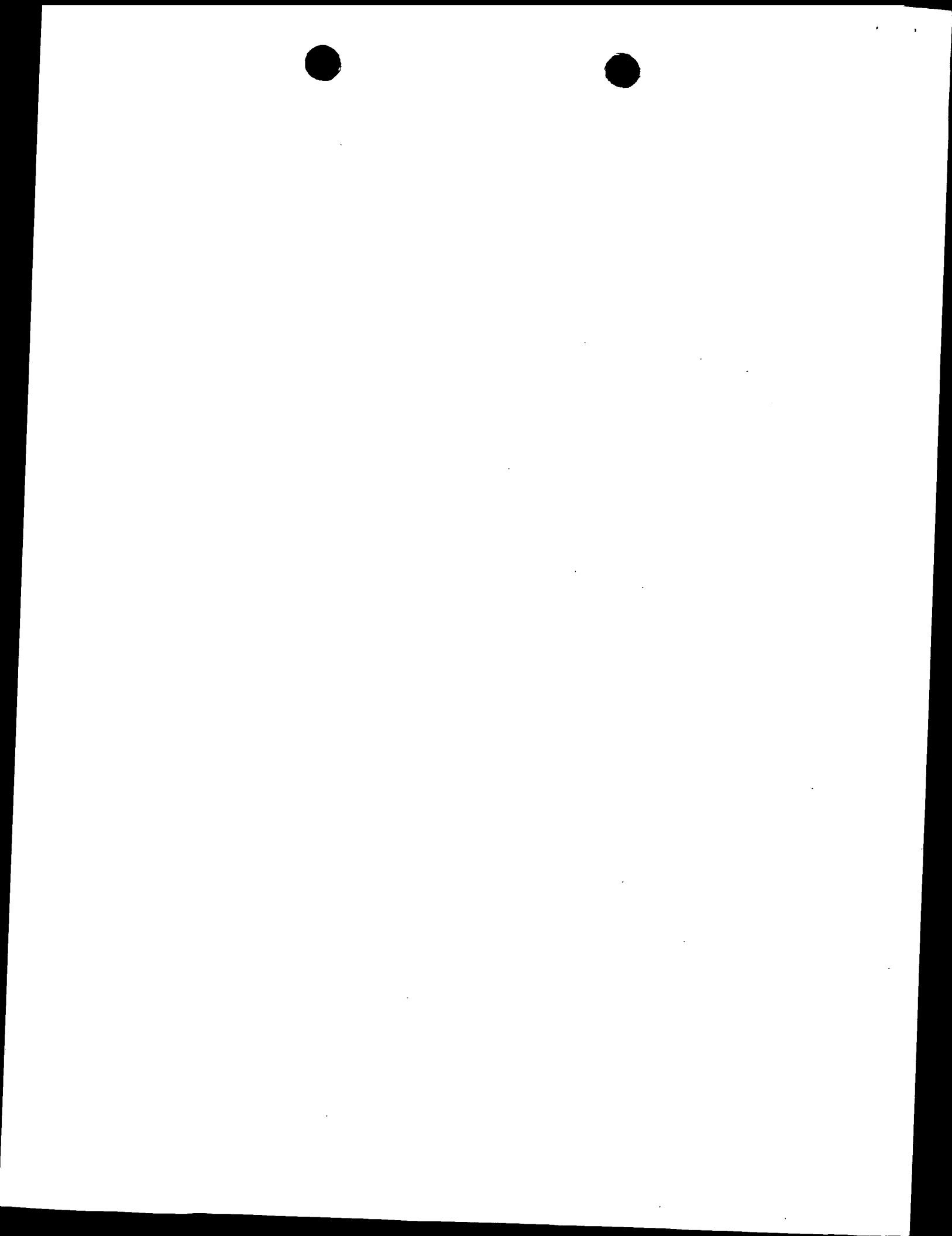
国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
六笠 紀子

4 B

9735

電話番号 03-3581-1101 内線 3448



C (続き) . 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
A	Andresen, P. A. et al. "Molecular cloning, physical mapping and expression of the <i>bet</i> genes governing the osmoregulatory choline-glycine betaine pathway of <i>Escherichia coli</i> " Journal of General Microbiology (1988) Vol.134 No.6 P. 1737-1746	1-60, 62, 63
A	Pocard, J-A. et al. "Molecular characterization of the <i>bet</i> genes encoding glycine betaine synthesis in <i>Sinorhizobium meliloti</i> 102F34" Microbiology (1997) Vol. 143 No. 4 P. 1369-1379	1-60, 62, 63



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **06250191 A**(43) Date of publication of application: **09 . 09 . 94**

(51) Int. Cl

G02F 1/1337
C08G 69/26
C08G 69/32

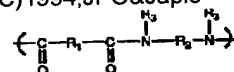
(21) Application number: **05037598**(22) Date of filing: **26 . 02 . 93**(71) Applicant: **SUMITOMO BAKELITE CO LTD**(72) Inventor: **ASAKUMA SUMITOSHI**
EGUCHI TOSHIMASA(54) **ORIENTED FILM FOR LIQUID CRYSTAL DISPLAY ELEMENT**

COPYRIGHT: (C)1994,JPO&Japio

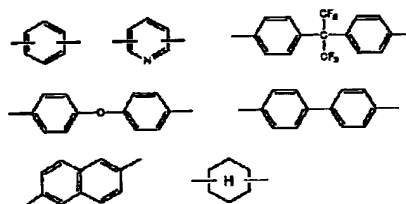
(57) Abstract:

PURPOSE: To provide the oriented film adequately usable for the liquid crystal display element of a TFT system, STN system or ferroelectric system in order to stably develop a high liquid crystal pretilt angle by incorporating a polymer incorporated with a specific repeating unit in its main chain.

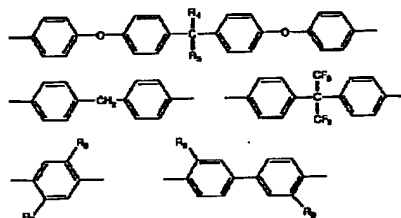
CONSTITUTION: This oriented film contains the polymer incorporated with the repeating unit expressed by formula I in its main chain. In the formula I, R_1 , R_2 are bivalent org. groups and R_3 are a univalent org. group. R_1 is a bivalent org. group constituting dicarboxylic acid and exhibits excellent characteristics as the oriented film for the liquid crystal display element in the case of the structure expressed by formula II. R_2 is a bivalent org. group constituting diamine and exhibits excellent characteristics as the oriented film for the liquid crystal display element in the case of the structure expressed by formula III. In the formula III, R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , are any of a hydrogen atom, 1 to 8 alkyl group, alkoxy group or trifluoromethyl group.



I



II



III

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-250191

(43)公開日 平成6年(1994)9月9日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 2 F 1/1337	5 2 0	9225-2K		
C 0 8 G 69/26	N S F	9286-4 J		
69/32	N S T	9286-4 J		

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 7 頁)

(21)出願番号 特願平5-37598

(22)出願日 平成5年(1993)2月26日

(71)出願人 000002141

住友ベークライト株式会社
東京都千代田区内幸町1丁目2番2号

(72)発明者 朝隈 純俊

東京都千代田区内幸町1丁目2番2号 住
友ベークライト株式会社内

(72)発明者 江口 敏正

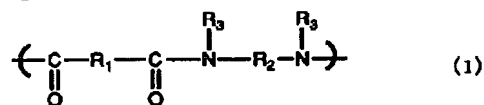
東京都千代田区内幸町1丁目2番2号 住
友ベークライト株式会社内

(54)【発明の名称】 液晶表示素子用配向膜

(57)【要約】

【構成】 式(1)で表される繰り返し単位が主鎖中に含まれている重合体を含有する液晶表示素子用配向膜。

【化1】



(ここで、R₁、R₂は2価の有機基であり、R₃は1価の有機基である)

【効果】 高い液晶プレチルト角を安定して発現するため、TFT方式、STN方式、あるいは強誘電方式の液晶表示素子に好適に用いられる。

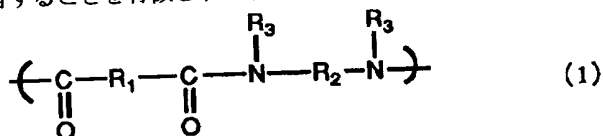


【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)で表される繰り返し単位が主鎖中に含まれている重合体を含有することを特徴とする液*

* 晶表示素子用配向膜。

【化1】

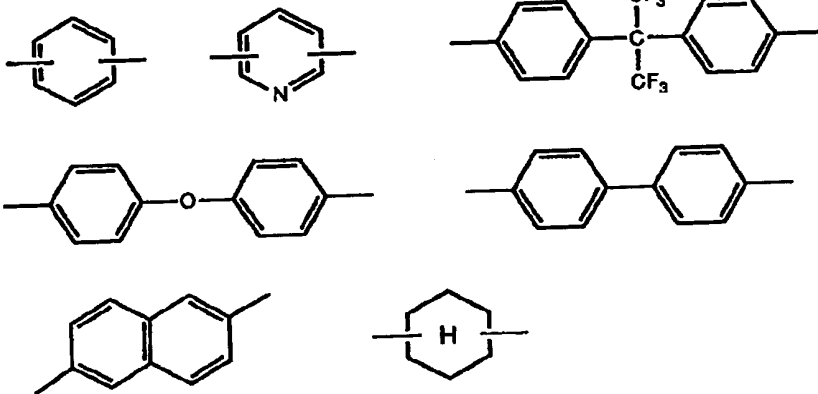


(ここで、 R_1, R_2 は2価の有機基であり、 R_3 は1価の有機基である)

※ 価の有機基の一種である請求項1記載の液晶表示素子用配向膜。

【請求項2】 式(1)において R_1 が下記で示される2

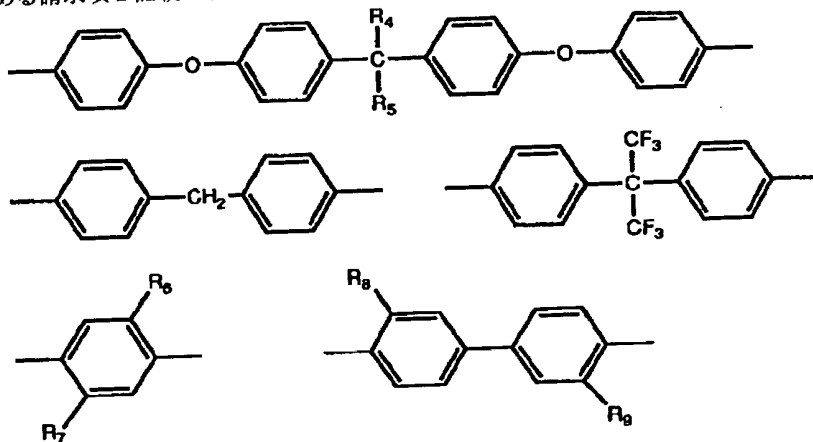
【化2】



【請求項3】 式(1)において R_2 が下記で示される2価の有機基の一種である請求項1記載の液晶表示素子用★

★ 配向膜。

【化3】



(ここで、 $\text{R}_4, \text{R}_5, \text{R}_6, \text{R}_7, \text{R}_8, \text{R}_9$ は水素原子、炭素数1から8のアルキル基、アルコキシ基、あるいはトリフルオロメチル基のいずれかである。)

【請求項4】 式(1)において R_3 が炭素数6以上の有機基である請求項1記載の液晶表示素子用配向膜。

【請求項5】 式(1)において R_3 が炭素数6以上の芳香族環、あるいは脂肪族環を含む有機基である請求項1記載の液晶表示素子用配向膜。

【請求項6】 式(1)において R_3 が3個以上のフッ素原子を含む炭素数2以上の有機基である請求項1記載の液晶表示素子用配向膜。

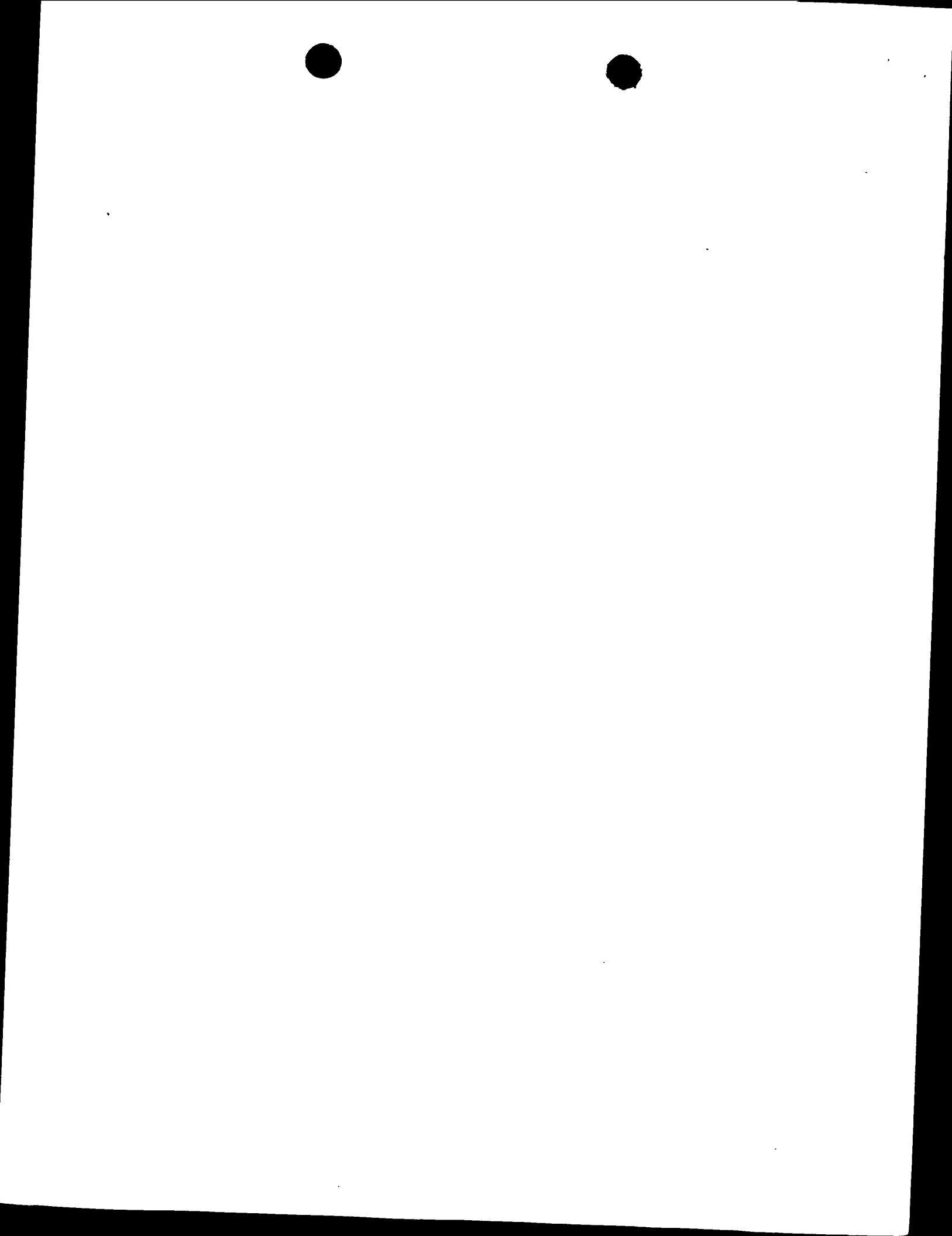
【発明の詳細な説明】

【0001】

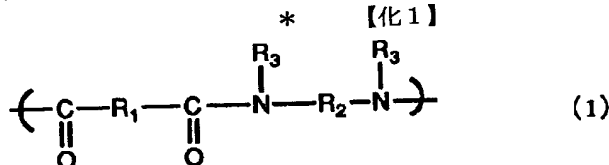
【産業上の利用分野】 本発明は液晶表示素子の配向膜に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、液晶ディスプレイの配向膜として、ポリビニルアルコールやポリアミド樹脂、ポリイミド樹脂の様な有機高分子フィルムを使用する方法が知られている。特に、ポリイミド樹脂は各種の液晶を配向させる働きを有し、かつ耐熱性等にも優れていることから液晶配向膜として広く用いられている。しかし、近年の液晶ディスプレイの特性向上に伴い、配向膜材料に対しても従来にもまして優れた特性が要求されるようになって

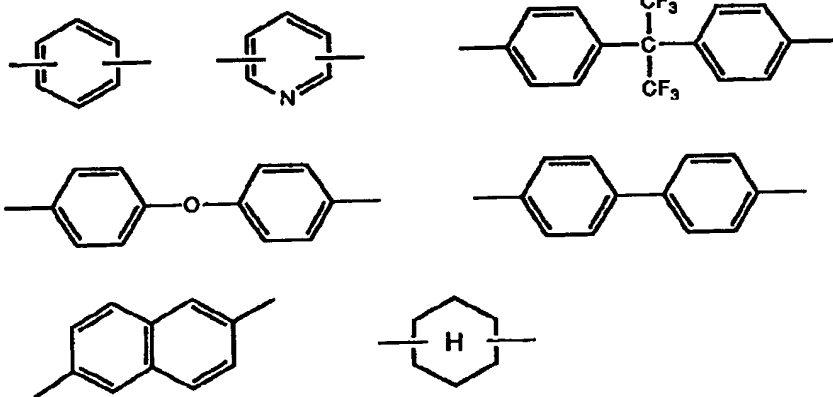


てきた。具体的には、安定して高いプレチルト角を与えるといった良好な液晶配向特性を示し、高い電圧保持率や低い消費電力等の優れた電気光学特性を有している等である。これらの中で、液晶のプレチルト角は液晶ディスプレイの視覚特性に直接影響を及ぼす特性であり、特にSTN方式、TFT方式、強誘電方式等のディスプレイでは安定して高いプレチルト角を与えることが非常に重要であるが、現在の配向膜はその要求に十分に答えているとはいえない。

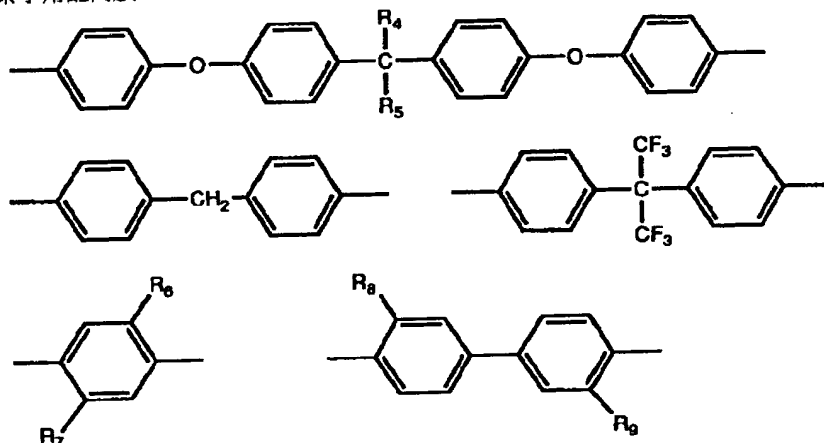


(ここで、 R_1 , R_2 は2価の有機基であり、 R_3 は1価の有機基である)

【0005】式(1)において、 R_1 はジカルボン酸を構成する2価の有機基であるが、その中でも下記で示される構造である場合、液晶表示素子用配向膜として優れた※



【0006】また、式(1)における R_2 はジアミンを構成する2価の有機基であるが、特に下記に示される構造である場合液晶表示素子用配向膜として優れた特性を示★



(ここで、 R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 は、水素原子、炭素数1から8のアルキル基、アルコキシ基、あるいはトリフルオロメチル基のいずれかである。)

*【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記欠点を解決し、安定した高いプレチルト角を与える液晶表示素子用配向膜を提供するものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は、式(1)で表される繰り返し単位が主鎖中に含まれている重合体を含むことを特徴とする液晶表示素子用配向膜である。

【化1】

※特性を示す。さらにこれらの中でも1,4-シクロヘキシル基の場合はさらに優れた配向特性、高い電圧保持特性、さらに非常に低い消費電流値を示す。

【化2】

★す。

【化3】

【0007】さらに、式(1)におけるアミド窒素に結合した R_3 基は1価の有機基であるが、その中でも特に炭素数6以上の有機基である場合、さらに好ましくは炭素



数6以上の芳香族環、あるいは脂肪族環を含む有機基である場合に特に良好な液晶一軸配向性と安定して高いプレチルト角を示す。また、 R_3 が3個以上のフッ素原子を含む炭素数2以上の有機基である場合は、より高いプレチルト角を安定して与え、優れた液晶表示素子用配向膜となる。

【0008】また、式(1)の R_3 基は、重合体の全アミド窒素原子の30%以上、好ましくは50%以上、さらに好ましくは70%以上に導入されていることが好ましい。 R_3 基導入率が30%以下の場合には液晶のプレチルト角の向上効果が小さく、さらにNMP等を主成分とする極性の高い溶媒系にしか溶解せず、配向剤の塗布、印刷工程にも不都合がでやすい。

【0009】本発明においては、式(1)を含むポリアミド系重合体はそれ単独で使用され得るが、他のポリマーと混合して使用されても安定して高いプレチルト角を発現しうる。その際、他のポリマーとしては、式(1)の R_3 基が全て水素原子であるポリアミド、ポリイミド、ポリアミド酸等が挙げられる。また、その際の式(1)を含むポリアミドの割合としては重量分率で0.5%以上が好ましい。0.5%以下の場合には、安定して高いプレチルト角を発現する効果が少なくなる。

【0010】本発明のポリアミド系重合体を得るには、既に公知の方法を適用することが可能であり、諸条件についても特に制限されるものではないが、一般には以下のような方法が行なわれる。まず、原料がジカルボン酸とジアミンの場合は、N-メチル-2-ピロリドン(NMP)、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、N,N-ジメチルアセトアミド(DMAc)等とピリジンの混合溶媒系にて、亜リン酸トリフェニル、塩化リチウム等を共存させて反応することによりポリアミドを合成する。また、ジカルボン酸原料としてジカルボン酸ジクロライド等の酸ハロゲン化物を用いる場合は、NMP、DMAc等の溶媒中でトリエチルアミンやピリジン共存させジアミン化合物と反応しポリアミドを合成する。次に、このようにして得られたポリアミドをジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し水酸化カリウムを添加した後、 R_3 -Clあるいは R_3 -Br等のハロゲン化物を加えることにより式(1)の重合体を合成する。

【0011】液晶配向膜を形成する際は、上に述べたような反応で得られた式(1)で表される繰り返し単位が主鎖中に含まれているポリアミド系重合体を溶剤に溶解し、この溶液を基板に塗布した後、加熱により溶媒を除去する。溶媒としてはポリアミド重合体が均一に溶解するものであれば何ら限定されず、例えば、NMP、DMF、DMAc、 γ -ブチロラクトン、ブチルセロソルブ、エチルセロソルブ、ジグリム、エチルカルビトール等が挙げられ、これらは単独あるいは2種以上の混合系で用いられる。また、基板への塗布は、スピンコート、印刷等の方法により行なわれ、焼成条件は使用する溶媒にも依存す

るが、一般に100℃以上の温度で行なわれる。

【0012】

【実施例】以下に本発明の実施例を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によってなんら限定されるものではない。

【0013】(合成例1) 温度計、攪拌機、原料仕込口、還流冷却管及び乾燥窒素ガス導入口を備えた500ml四つ口セパラブルフラスコに、1,4-シクロヘキサンジカルボン酸13.78g (0.08mol)、2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)プロパン32.84g (0.08mol)、亜リン酸トリフェニル49.65g (0.16mol)、塩化リチウム17.8g、NMP200g、ピリジン150gを入れ、100℃にて3時間反応を行ない粘稠な溶液を得た。この溶液をメタノールに再沈した後ポリマーを単離しさらに純水へ再沈を3回行ない十分に乾燥を行なった。

【0014】(合成例2) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸として1,4-シクロヘキサンジカルボン酸13.78g、ジアミン原料としてジアミノジフェニルメタン15.86gを用いポリアミドを合成した。

【0015】(合成例3) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸として1,4-シクロヘキサンジカルボン酸13.78g、ジアミン原料として2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)ヘキサフルオロプロパン41.48gを用いポリアミドを合成した。

【0016】(合成例4) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸としてテレフタル酸13.29g、ジアミン原料としてジアミノジフェニルメタン15.86gを用いポリアミドを合成した。

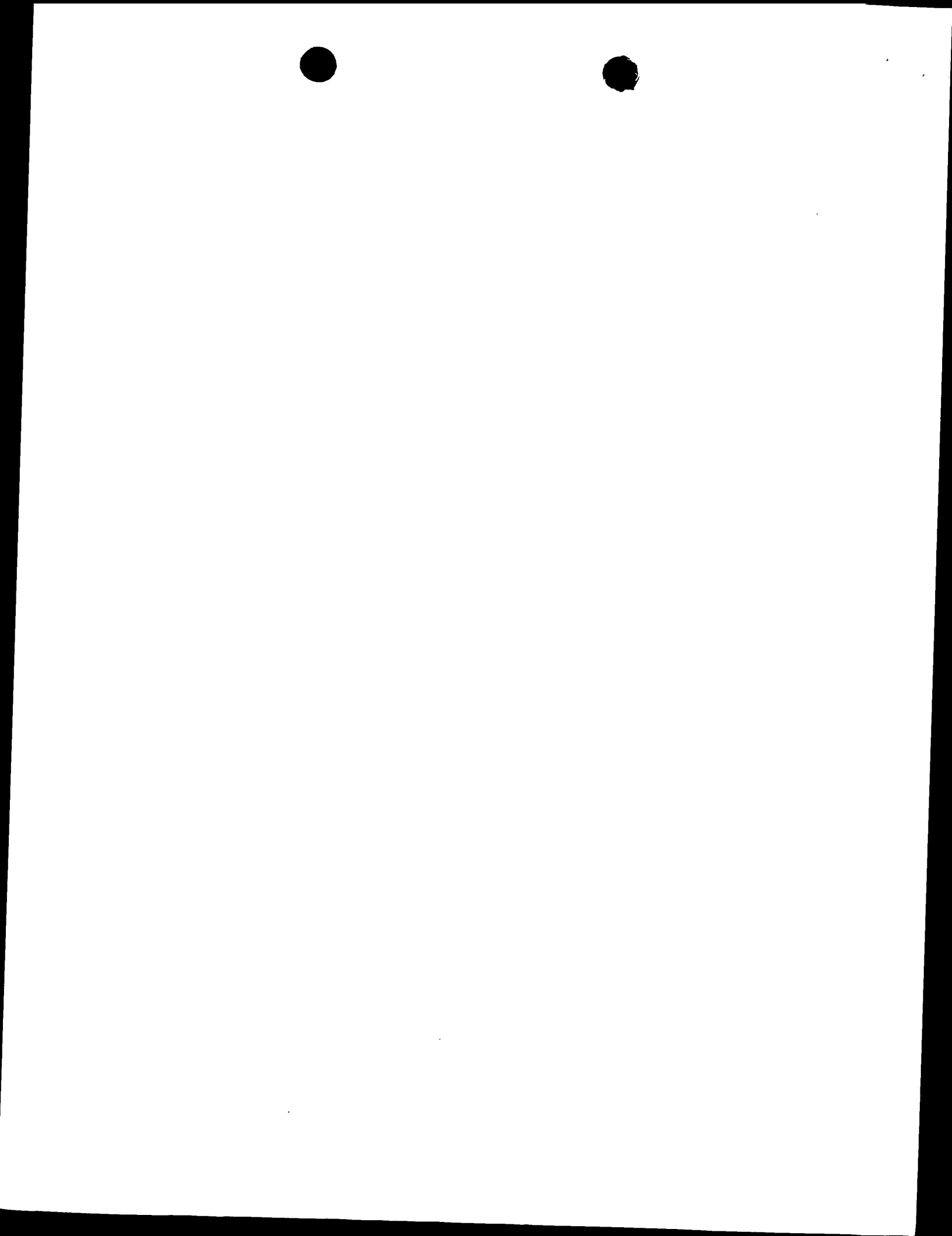
【0017】(合成例5) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸としてテレフタル酸13.29g、ジアミン原料として2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)プロパン32.84gを用いポリアミドを合成した。

【0018】(合成例6) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸としてテレフタル酸13.29g、ジアミン原料として2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)ヘキサフルオロプロパン41.48gを用いポリアミドを合成した。

【0019】(合成例7) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸として4,4'-ビフェニルジカルボン酸19.38g、ジアミン原料として2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)ヘキサフルオロプロパン41.48gを用いポリアミドを合成した。

【0020】(合成例8) 合成例1と同様な反応条件にて、ジカルボン酸として2,6-ナフタレンジカルボン酸17.30g、ジアミン原料として2,2-ビス(4-(4-アミノフェノキシ)フェニル)ヘキサフルオロプロパン41.48gを用いポリアミドを合成した。

【0021】(合成例9) 合成例1で得られたポリマー10gをDMSO 150gに攪拌溶解させ、粉末状の水酸化カリウム(85%) 2.9g (0.044mol)を加えた。さらに1-ク



ロロヘキサン5.3g (0.044mol) を添加し、70℃にて6時間反応を行なった。この反応溶液をメタノールに再沈しポリマーを単離した後、さらにNMPに溶解して純水に再沈することにより得られたポリマーの精製を行なった。NMR測定により全アミド窒素の90%にヘキシル基が導入されていることを確認した。

【0022】(合成例10～27) 合成例1から8で得られたポリマーを、合成例9と同様な操作によりアミド窒素のプロトンを置換した。その際に用いたハロゲン化物 (R_3-Cl あるいは R_3-Br) は表1に示した通りである。

【0023】(実施例1) 合成例9で得られたポリマーを濃度が5～6%となるようにNMPに溶解し、ポアサイズ0.5 μm のメンブランフィルターで濾過した後、透明電極付きガラス基板の透明電極面にスピncerにより塗布し、180℃で1時間加熱し、約800オングストロームの塗膜を形成させた。引き続き、塗膜面をラビングマシンによりラビングし、2枚の基板を20 μm のギャップで張り合わせ、液晶(メルク社製、ZLI-1132)を注入して液晶セルを作製した。液晶の配向性を顕微鏡により評価したところ全面にわたり均一であり、さらにクリスタル

ローテーション法によりプレチルト角を測定した結果*

*プレチルト角は8.4度であった。さらに、このセルを100℃、60%RH条件下で1か月処理したのち液晶配向性及びプレチルト角の測定を行なったが、処理前と比べ全く変化していなかった。

【0024】(実施例2～19) 合成例10から27で得られたポリマーを用いて実施例1と同様に液晶セルを作成し、液晶の配向状態及びプレチルト角を測定した結果を表1に示す。またいずれの例もセルを100℃、60%RH条件下で1か月処理したのち液晶配向性及びプレチルト角の測定を行なったが、処理前と比べ全く変化していなかった。

【0025】(実施例20) 合成例9で得られたポリマー10重量部と合成例1で得られたポリマー90重量部を含むNMP溶液を調製し、実施例1と同様に液晶セルを作成し、液晶の配向状態及びプレチルト角を測定した結果を表2に示す。セルを100℃、60%RH条件下で1か月処理したのち液晶配向性及びプレチルト角の測定を行なったが、処理前と比べ全く変化していなかった。

【0026】

【表1】

表1

実施例No.	原料ポリマー	R3導入原料	使用ポリマー	R ₃ 置換率	液晶配向性	プレチルト角(度)
実施例2	合成例1	2	合成例10	86(%)	良好	6.2
実施例3	合成例1	3	合成例11	76	同上	12.5
実施例4	合成例1	4	合成例12	75	同上	9.8
実施例5	合成例2	1	合成例13	86	同上	7.5
実施例6	合成例2	2	合成例14	93	同上	7.2
実施例7	合成例2	3	合成例15	80	同上	15.0
実施例8	合成例3	1	合成例16	81	同上	6.0
実施例9	合成例3	4	合成例17	88	同上	20.5
実施例10	合成例4	2	合成例18	95	同上	9.5
実施例11	合成例4	3	合成例19	77	同上	25.0
実施例12	合成例5	3	合成例20	73	同上	12.2
実施例13	合成例5	4	合成例21	85	同上	8.6
実施例14	合成例6	1	合成例22	93	同上	8.3
実施例15	合成例6	3	合成例23	77	同上	18.3
実施例16	合成例7	2	合成例24	85	同上	10.5
実施例17	合成例7	4	合成例25	80	同上	15.1
実施例18	合成例8	1	合成例26	93	同上	7.5
実施例19	合成例8	4	合成例27	74	同上	8.8

【0027】(実施例21～23) 実施例20と同様に2種類のポリマーを含むNMP溶液を調製し、液晶セル特

性の評価を行なった。その際に使用したポリマーと割合、及び評価結果は表2に示した通りである。



【0028】

【表2】

表2

実施例No.	使用ポリマー及び重量比	液晶配向性	プレチルト角(度)
実施例20	合成例9/合成例1=10/90	良好	7.0
実施例21	合成例13/合成例2=10/90	同上	5.5
実施例22	合成例20/合成例5=10/90	同上	9.2
実施例23	合成例22/合成例6=10/90	同上	8.0

【0029】(比較例1~8) 合成例1から8で得られたポリマーを用いて実施例1と同様に液晶セルを作成し、液晶の配向状態及びプレチルト角を測定した結果を*

*表3に示す。

【0030】

【表3】

表3

比較例No.	使用ポリマー	液晶配向性	プレチルト角(度)
比較例1	合成例1	良好	2.1
比較例2	合成例2	同上	1.5
比較例3	合成例3	同上	2.8
比較例4	合成例4	同上	2.5
比較例5	合成例5	同上	3.4
比較例6	合成例6	同上	4.8
比較例7	合成例7	同上	5.0
比較例8	合成例8	同上	3.1

【0031】

【発明の効果】本発明の液晶配向膜は高い液晶プレチルト※

※ト角を安定して発現するためTFT方式、STN方式、あるいは強誘電方式の液晶表示素子に好適に用いられる。

【手続補正書】

【提出日】平成5年4月12日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0026

【補正方法】変更

★【補正内容】

【0026】

【表1】

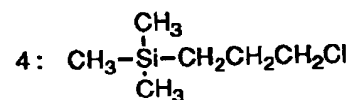
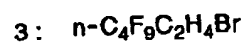
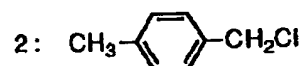
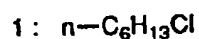
★

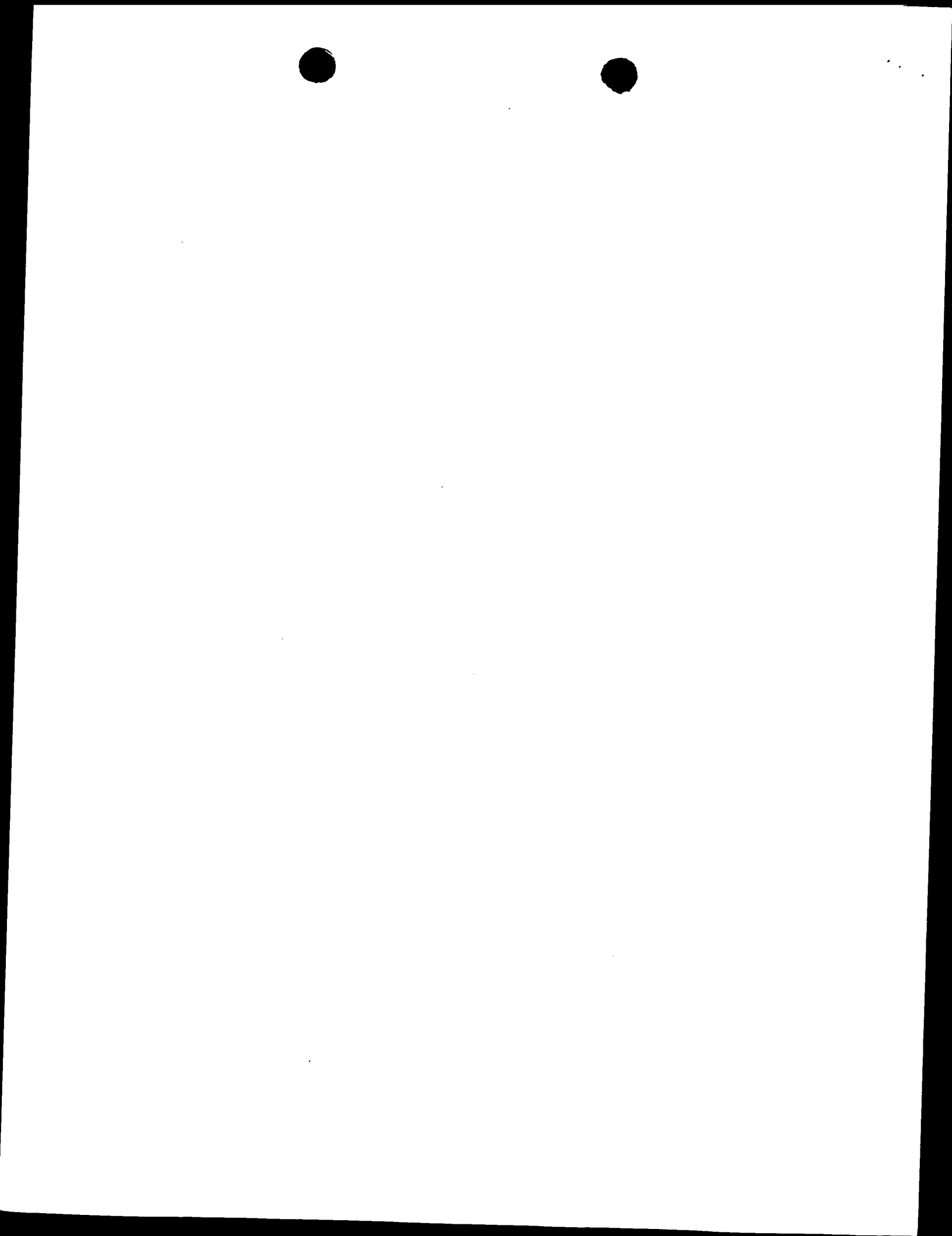


表1

実施例No.	原料ポリマー	R ₃ 導入原料	使用ポリマー	R ₃ 置換率	液晶配向性	プレチルト角 (度)
実施例2	合成例1	2	合成例10	86 (%)	良好	6.2
実施例3	合成例1	3	合成例11	76	同上	12.5
実施例4	合成例1	4	合成例12	75	同上	9.8
実施例5	合成例2	1	合成例13	86	同上	7.5
実施例6	合成例2	2	合成例14	93	同上	7.2
実施例7	合成例2	3	合成例15	80	同上	15.0
実施例8	合成例3	1	合成例16	81	同上	6.0
実施例9	合成例3	4	合成例17	88	同上	20.5
実施例10	合成例4	2	合成例18	95	同上	9.5
実施例11	合成例4	3	合成例19	77	同上	25.0
実施例12	合成例5	3	合成例20	73	同上	12.2
実施例13	合成例5	4	合成例21	85	同上	8.6
実施例14	合成例6	1	合成例22	93	同上	8.3
実施例15	合成例6	3	合成例23	77	同上	18.3
実施例16	合成例7	2	合成例24	85	同上	10.5
実施例17	合成例7	4	合成例25	80	同上	15.1
実施例18	合成例8	1	合成例26	93	同上	7.5
実施例19	合成例8	4	合成例27	74	同上	8.8

表中のR₃導入原料は以下に示したとおりである。





PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HIROTA, Masanori
Akasakaaoi Building No. 11
Room 502
8-11, Akasaka 2-chome
Minato-ku
Tokyo 107-0052
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 08 March 2001 (08.03.01)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference A011-05PCT			
International application No. PCT/JP00/05545	International filing date (day/month/year) 18 August 2000 (18.08.00)	Priority date (day/month/year) 27 August 1999 (27.08.99)	
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
CA,EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
08 March 2001 (08.03.01) under No. WO 01/16315

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

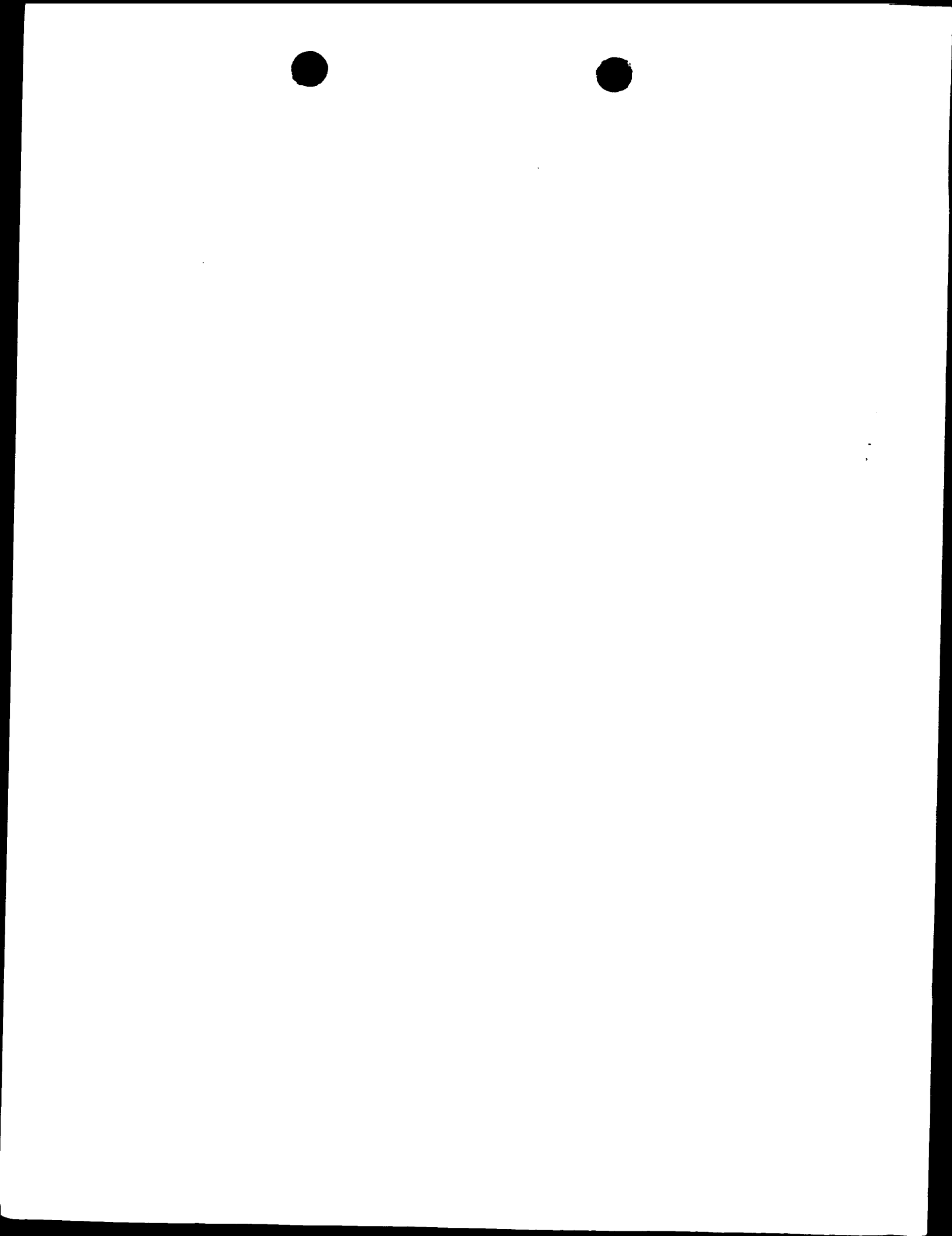
Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38



PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

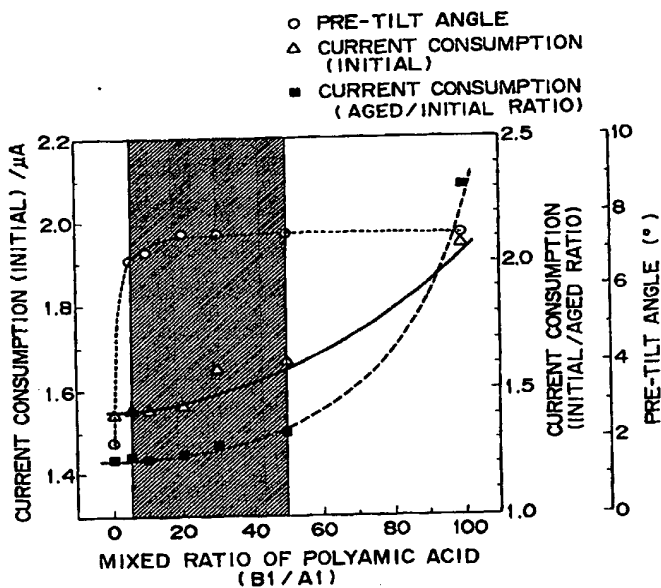
INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : G02F 1/1337, C08L 79/08		A1	(11) International Publication Number: WO 99/34252 (43) International Publication Date: 8 July 1999 (08.07.99)
(21) International Application Number: PCT/JP98/05547 (22) International Filing Date: 8 December 1998 (08.12.98) (30) Priority Data: 9/368093 29 December 1997 (29.12.97) JP (71) Applicant (for all designated States except US): CHISSO CORPORATION [JP/JP]; 6-32, Nakanoshima 3-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-0005 (JP). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): TANIOKA, Satoshi [JP/JP]; 17, Tatsumidaihigashi 2-chome, Ichihara-shi, Chiba 290-0003 (JP). MURATA, Shizuo [JP/JP]; 545-9, Shiizu, Ichihara-shi, Chiba 299-0118 (JP). SHIMIZU, Itsuo [JP/JP]; 27-2, Tatsumidaihigashi 3-chome, Ichihara-shi, Chiba 290-0003 (JP). ITO, Kazumi [JP/JP]; 39-3, Higashigoshi, Ichihara-shi, Chiba 290-0064 (JP).		(81) Designated States: CN, KR, US, European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Published <i>With international search report.</i>	

(54) Title: **POLYAMIC ACID COMPOSITION, LIQUID CRYSTAL ALIGNING FILM, AND LIQUID CRYSTAL DISPLAY ELEMENT**

(57) Abstract

The present invention provides a liquid crystal display element having an adequate pre-tilt angle for preventing the reverse domain, as well as excellent electrical properties by preparation of the polyamic acid composition for the liquid crystal display element which comprises a polyamic acid A that excels in electrical properties and a polyamic acid B that has side chains, mixed in the ratio A/B of 50/50 to 95/5 (by weight).



FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PL	Poland		
CN	China	KZ	Kazakhstan	PT	Portugal		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SD	Sudan		
DK	Denmark	LR	Liberia	SE	Sweden		
EE	Estonia			SG	Singapore		

DESCRIPTION

Polyamic Acid Composition, Liquid Crystal Aligning Film, and
Liquid Crystal Display Element

5

Technical Field

The present invention relates to a polyamic acid composition which excels in electrical properties and reliability for use in the field of electronic materials. The applications thereof include aligning films, protection films, insulation films, and the like. In particular, the polyamic acid composition is highly suitable for application to aligning films for liquid crystal display elements.

15 Background Art

The present mainstream of liquid crystal display elements are those utilizing nematic liquid crystals. Liquid crystal display elements presently in practical use include a TN element twisted by 90°, an STN element usually twisted by 180° or more, and a TFT liquid crystal display element utilizing thin film transistors. In addition to these, there have been developed liquid crystal display elements of various driving systems, such as a lateral-electric-field-type liquid crystal display elements of the IPS (In Plane Switching) mode having improved view-angle properties. The progress of liquid

25

crystal display elements is not limited to only these modes, but active efforts to improve peripheral materials have been made in order to attain improvement of the properties of liquid crystal display elements.

5 With wider use of liquid crystal display elements in various fields, liquid crystal display elements having improved properties have been demanded. Such demands include demands in relation to the alignment properties of liquid crystals represented by the pre-tilt angle, demands in relation
10 to the electrical properties of liquid crystal display elements such as current consumption, voltage holding ratio, and residual voltage, and demands for the reliability of such properties in long-time use.

Of these properties, the required pre-tilt angles of
15 liquid crystals differ depending on the driving systems of liquid crystal display elements. For example, TN elements or TFT elements, in which liquid crystals are twisted by 90° , require a pre-tilt angle of 1 to 6° , and STN elements having larger twist angles require a pre-tilt angle of 3 to 8° . In
20 addition to pre-tilt angles, properties related to the alignment of liquid crystals such as alignment uniformity, alignment stability, and anchoring energy at the liquid crystal-aligning film interface are also important, because these properties influence the performance of liquid crystal
25 display elements. In addition, the process margin of these

properties in the manufacture of liquid crystal display elements is also important. A significant problem will arise if the pre-tilt angle or alignment of liquid crystals varies depending on the conditions of drying solvent after the
5 application of alignment materials, conditions of imidizing the polyamic acid (typically by heat-treatment), or conditions of annealing after injecting liquid crystals.

For STN liquid crystal display elements, especially those of a low-voltage type used in portable devices, low current
10 consumption is demanded because of the low driving voltage of liquid crystal display elements. That is, since voltage applied to liquid crystals lowers accordingly when the current consumption of a liquid crystal element rises, the rise of liquid crystal molecules becomes insufficient, and contrast
15 lowers. For liquid crystal display elements of a low-voltage type, change in current consumption experienced in long-time use (reliability) is also important. Since STN display elements use a slight potential difference for turning a display on or off, if the current consumption of an element
20 changes, voltage applied to liquid crystals also changes making normal driving impossible. In an extreme case, there results a phenomenon such that no images of a liquid crystal display element are displayed when the element is driven for a long time.

25 For TFT liquid crystal display elements, on the other hand,



requirements for voltage holding ratio and residual voltage are particularly important. If voltage holding ratio is small, voltage applied to liquid crystals during the field period lowers, resulting in low contrast. If residual voltage is
5 high, electric charge remains even if the voltage is turned off after the voltage is impressed, and images that should be erased remain as residual image. In TFT liquid crystal display elements, the residual image phenomenon is one of the most critical problems.

10 The object of the present invention is to provide a liquid crystal aligning film for obtaining a liquid display element having an optimal pre-tilt angle, low current consumption, and highly reliable pre-tilt angle and current consumption even after long-term use.

15 With regard to an example of a liquid crystal alignment material having stable liquid crystal alignment properties and pre-tilt angles and good electro-optical, properties, Japanese Patent Application Laid Open No. 07-120768 discloses an alignment material which contains a polyamic acid having an
20 aliphatic tetracarboxylic dianhydride as an essential component, and a polyamic acid having an aromatic tetracarboxylic dianhydride as another essential component.

However, since no amine components having groups that increase the pre-tilt angle of liquid crystals are described
25 in the cited reference, obtaining an adequate pre-tilt angle



is difficult. That is, it is difficult to obtain a material concurrently having an adequate pre-tilt angle, excellent electrical properties, and the reliability of these properties through the use of the process disclosed in the cited reference.

- 5 Although the cited reference describes that a siloxane-based diamine is preferred, it has a small pre-tilt angle, as well as a problem of liquid crystal alignment (see Comparative Examples described herein).

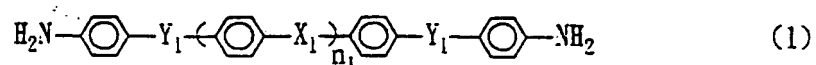
10 Disclosure of the Invention

- In order to solve the above problems, the inventors of the present invention conducted repeated examinations on the structures of tetracarboxylic dianhydrides and diamines used in the polyamic acids and the combination of polyamic acids,
15 and found that the above object was achieved by use, as the polymer component of a liquid crystal aligning film used in a liquid crystal display element, of an alignment material containing a polyamic acid A and a polyamic acid B, each having a specific tetracarboxylic dianhydride and a specific diamine
20 component selected from those described below.

- According to a first aspect of the present invention, there is provided a polyamic acid composition comprising a polyamic acid A providing a polyimide having excellent electrical properties, and a polyamic acid B containing a diamine having
25 side chains, wherein said polyamic acid A is a polyamic acid



comprising an acid component containing at least one tetracarboxylic dianhydride selected from a group consisting of aliphatic tetracarboxylic dianhydrides and alicyclic tetracarboxylic dianhydrides, and an amine component based on
 5 at least one of aromatic diamine represented by the following formula (1);

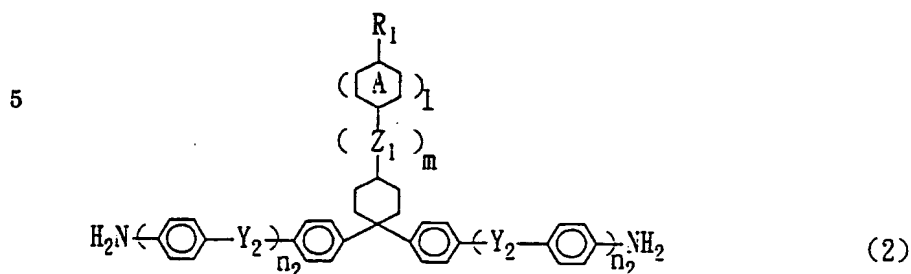


wherein, each Y_1 is independently an oxygen atom or a CH_2 group;
 10 each X_1 is independently a single bond, an oxygen atom, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$, S, SO_2 , or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2,
 and said polyamic acid B is a polyamic acid comprising an acid component containing 50 mole % or more of at least one aromatic
 15 tetracarboxylic dianhydride, and an amine component containing at least one diamine having a group enabling the pre-tilt angle of a liquid crystal to be increased on the side chain thereof, the ratio A/B of the polyamic acid A to the polyamic acid B being 50/50 to 95/5 (by weight).

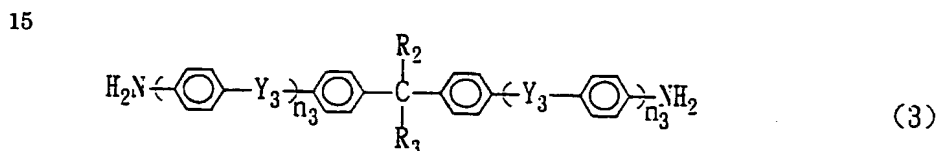
20 According to a second aspect of the present invention, there is provided polyamic acid composition according to the first aspect, wherein the diamine having in the side chain thereof a group enabling the pre-tilt angle of a liquid crystal to be increased in the polyamic acid B is at least one of diamines
 25 represented by general formulas (2) and (3), or said diamine



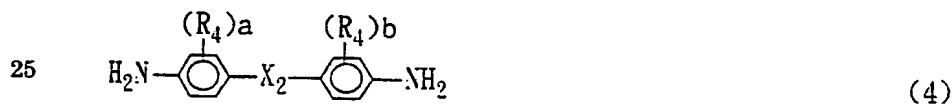
and at least one of diamines represented by the above general formula (1) and a general formula (4).



10 wherein, R_1 is hydrogen atom or an alkyl group having 1 to 12 carbon atoms; Z_1 is CH_2 group; m is an integer from 0 to 2; the ring A is benzene ring or cyclohexane ring; l is 0 or 1; each Y_2 is independently oxygen atom or CH_2 group; and each n_2 is independently 0 or 1.



wherein, each Y_3 is independently oxygen atom or CH_2 group; each of R_2 and R_3 is independently hydrogen atom, an alkyl group or
 20 a perfluoroalkyl group having 1 to 12 carbon atoms, at least one of R_2 and R_3 being an alkyl group or a perfluoroalkyl group having 3 or more carbon atoms; and each n_3 is independently 0 or 1.





wherein, X_2 is a divalent aliphatic group; each R_4 is independently hydrogen atom or CH_3 ; and each of a and b is 1 or 2.

According to a third aspect of the present invention, there
5 is provided a polyamic acid composition according to the second aspect, wherein the polyamic acid A contains an acid component containing alicyclic tetracarboxylic dianhydride and aliphatic tetracarboxylic dianhydride; and the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein
10 Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2.

According to a fourth aspect of the present invention, there is provided a polyamic acid composition according to the
15 second aspect, wherein the ratio of the aliphatic tetracarboxylic dianhydride to the alicyclic tetracarboxylic dianhydride in polyamic acid A is 90/10 to 30/70 (mole ratio); and the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single
20 bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2.

According to a fifth aspect of the present invention, there is provided a polyamic acid composition according to the second aspect, wherein the aliphatic tetracarboxylic dianhydride in
25 the polyamic acid A is butane tetracarboxylic dianhydride, the

alicyclic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.

According to a sixth aspect of the present invention, there is provided a polyamic acid composition according to the second aspect, wherein the polyamic acid A comprises an acid component containing cyclobutane tetracarboxylic dianhydride and butane tetracarboxylic dianhydride, and the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.

According to a seventh aspect of the present invention, there is provided a polyamic acid composition according to the second aspect, wherein the aliphatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is butane tetracarboxylic dianhydride, the alicyclic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, the ratio of the former to the latter is 90/10 to 30/70 (mole ratio), and in general formula (1), Y_1 is CH_2 ; each X_1 is

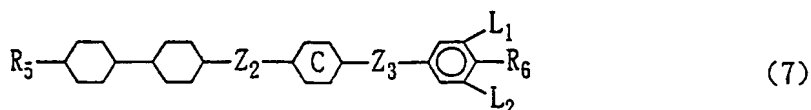
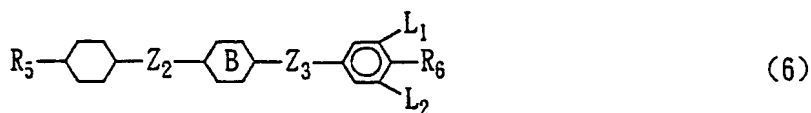


independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.

5 According to an eighth aspect of the present invention, there is provided an aligning film for liquid crystal display elements containing a polyimide obtained from a composition according to any of the first through seventh aspects.

According to a ninth aspect of the present invention, there
10 is provided a liquid crystal display element using an aligning film for liquid crystal display elements according to the eighth aspect.

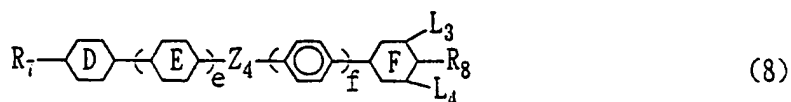
According to a tenth aspect of the present invention, there
is provided a liquid crystal display element according to the
15 ninth aspect, wherein the liquid crystal composition contains at least one compound selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7).





wherein, R_5 is an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; R_6 is fluorine atom, chlorine atom, -OCF₃, -OCF₂H, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -OCF₂CF₂H or -OCF₂CFHCF₃; each of L_1 and L_2 is independently hydrogen atom or fluorine atom; each of Z_2 and Z_3 is independently 1,2-ethylene, 1,4-butylene, -COO-, -CF₂O-, -OCF₂-, -CH=CH-, or a single bond; ring B is trans-1,4-cyclohexylene, 1,3-dioxane-2,5-diyl, or 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; and ring C is trans-1,4-cyclohexylene, or 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; and wherein atoms constituting such compounds may be substituted by isomers thereof.

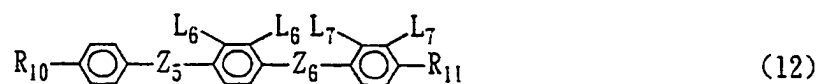
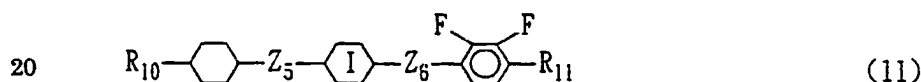
According to an eleventh aspect of the present invention, there is provided a liquid crystal display element according to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition contains at least one compound selected from those represented by general formulas (8) and (9).



wherein, each of R_7 and R_8 is independently an alkyl group having

1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; R_9 is -CN group or -C≡C-CN; ring D is *trans*-1,4-cyclohexylene, 1,4-phenylene, 1,3-dioxane-2,5-diyl, or pyrimidine-2,5-diyl;
 5 ring E is *trans*-1,4-cyclohexylene, 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms, or pyrimidine-2,5-diyl; ring F is *trans*-1,4-cyclohexylene or 1,4-phenylene; Z_4 is 1,2-ethylene, -COO-, or a single bond; each
 10 of L_3 , L_4 , and L_5 is independently hydrogen atom or fluorine atom; and each of e , f , and g is independently 0 or 1.

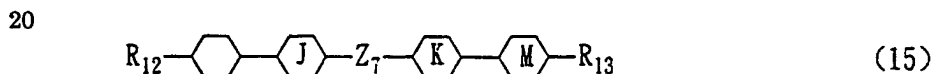
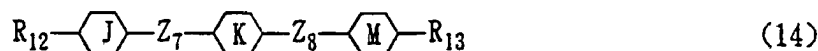
According to a twelfth aspect of the present invention, there is provided a liquid crystal display element according to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition
 15 contains at least one compound selected from those represented by general formulas (10), (11), and (12).



wherein, each of R_{10} and R_{11} is independently an alkyl group
 25 having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent

methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; each of rings G and I is independently *trans*-1,4-cyclohexylene or 1,4-phenylene; each of L₆ and L₇ is
 5 independently hydrogen atom or fluorine atom, but L₆ and L₇ are not hydrogen atoms simultaneously; and each of Z₅ and Z₆ is independently 1,2-ethylene, -COO-, or a single bond.

According to a thirteenth aspect of the present invention, there is provided a liquid crystal display element according
 10 to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition contains as the first component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7), and as the second component thereof at least one compound selected those represented by general formulas (13),
 15 (14), and (15).



wherein, each of R₁₂ and R₁₃ is independently an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in
 25 which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine

atoms; each of rings J, K, and M is independently trans-
1,4-cyclohexylene, pyrimidine-2,5-diyl, or 1,4-phenylene in
which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; and
each of Z₁ and Z₂ is independently 1,2-ethylene, -C≡C-, -COO-,
5 -CH=CH-, or a single bond.

According to a fourteenth aspect of the present invention,
there is provided a liquid crystal display element according
to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition
contains as the first component thereof at least one compound
10 selected from those represented by general formulas (8), and
(9), and contains as the second component thereof at least one
compound selected from those represented by general formulas
(13), (14), and (15).

According to a fifteenth aspect of the present invention,
15 there is provided a liquid crystal display element according
to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition
contains as the first component thereof at least one compound
selected from those represented by general formulas (10), (11),
and (12), and contains as the second component thereof at least
20 one compound selected from those represented by general
formulas (13), (14), and (15).

According to a sixteenth aspect of the present invention,
there is provided a liquid crystal display element according
to the ninth aspect, wherein the liquid crystal composition
25 contains as the first component thereof at least one compound

selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7); contains as the second component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (8) and (9); and contains as the third component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (13), (14), and (15).

According to a seventeenth aspect of the present invention, there is provided a liquid crystal display element according to any of the tenth through sixteenth aspects, wherein the liquid crystal composition further contains one or more optically active compounds.

Brief Description of the Drawings

Fig. 1 is an area diagram showing the balance between the pre-tilt angles, and initial values and aged/initial ratios of current consumption. The horizontal axis indicates the ratio of the amount of the polyamic acid B1 to the amount of the polyamic acid A1.

Detailed Description of Invention

The present invention will be described in detail below.

The aligning film according to the present invention is a polyamic acid composition containing a polyamic acid A having excellent electrical properties and a polyamic acid B enabling an increase in the pre-tilt angle of a liquid crystal molecule,



together with a solvent. The ratio of the polyamic acid A to the polyamic acid B, A/B, is 50/50 to 95/5 (by weight).

More specifically, the acid component of the tetracarboxylic dianhydride of the polyamic acid A is a
5 tetracarboxylic dianhydride-based component containing at least one alicyclic tetracarboxylic dianhydride, or at least one aliphatic tetracarboxylic dianhydride and at least one aliphatic tetracarboxylic dianhydride. The diamine component of the polyamic acid A is a component based on at least one
10 aromatic diamine having 3 to 5 rings selected from diamines represented by formula (1).

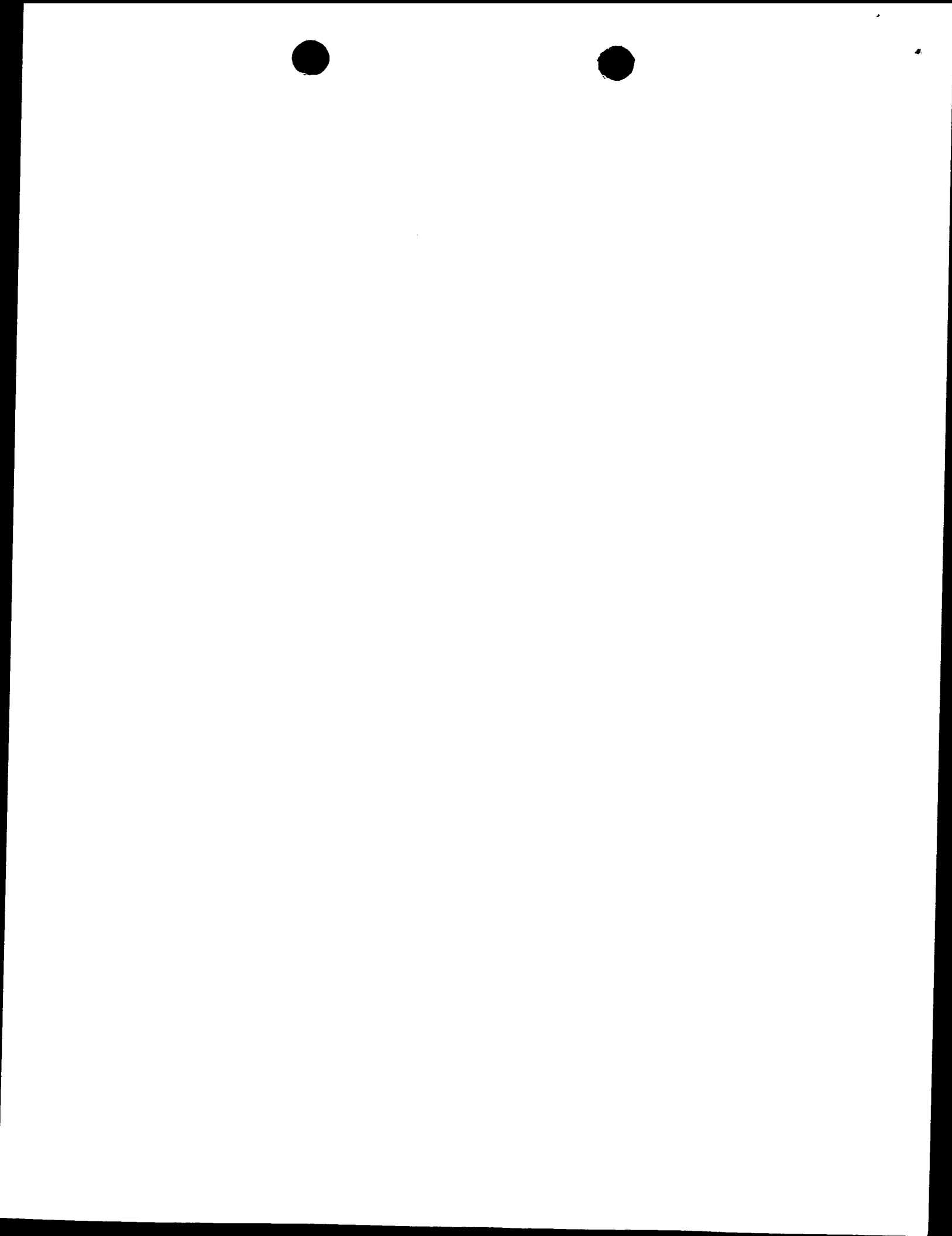
The tetracarboxylic dianhydride component of the polyamic acid B contains 50 mole % or more of at least one aromatic tetracarboxylic dianhydride, and the diamine component of the
15 polyamic acid B contains as an essential component thereof at least one diamine having on the side chain thereof a group that can increase the pre-tilt angle of liquid crystals. Unless otherwise specified, acid and amine components described herein and used as materials mean one component or more.

20 As described above, the ratio of the polyamic acid A to the polyamic acid B, A/B, preferably falls within the range of 50/50 to 95/5 (by weight). If the content of the polyamic acid B component is less than 5% by weight, the pre-tilt angle of liquid crystals will decrease; whereas if the content of
25 the polyamic acid B component is more than 50% by weight, the



pre-tilt angle will not necessarily increase, but electrical properties will lower (see Fig. 1). However, when a polyamic acid B excels in electrical properties and provides an adequate pre-tilt angle, 50% by weight or more such a polyamic acid B
5 may be used.

Alicyclic tetracarboxylic dianhydrides which can be used as the tetracarboxylic dianhydrides of the polyamic acid A specifically include cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, cyclopentane tetracarboxylic dianhydride,
10 bicyclo[2,2,2]-octo-7-ene-2,3,5,6-tetracarboxylic dianhydride,
cyclohexane-1,2,5,6-tetracarboxylic dianhydride,
3,3'-bicyclohexyl-1,1',2,2'-tetracarboxylic dianhydride,
2,3,5-tricarboxycyclopentylacetic dianhydride,
15 5-(2,5-dioxotetrahydrofural)-3-methyl-3-cyclohexene-1,2-dicarboxylic dianhydride,
1,3,3a,4,5,9b-hexahydro-5-tetrahydro-2,5-dioxo-3-furanyl)-naphtho[1,2,-c]-furan-1,3-dione,
3,5,6-tricarboxynorbornane-2-acetic dianhydride,
20 2,3,4,5-tetrahydrofuran tetracarboxylic dianhydride, and
alicyclic tetracarboxylic dianhydrides partially substituted by a lower alkyl group such as a methyl or ethyl group. Among these, cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, cyclopentane tetracarboxylic dianhydride, tricarboxycyclopentyl acetic
25 dianhydride, and cyclohexane tetracarboxylic dianhydride are



particularly preferably used.

Aliphatic tetracarboxylic dianhydrides which can be used preferably as the tetracarboxylic dianhydrides of the polyamic acid A specifically include ethylene tetracarboxylic dianhydride, butane tetracarboxylic dianhydride, pentane tetracarboxylic dianhydride, hexane tetracarboxylic dianhydride, and heptane tetracarboxylic dianhydride.

As the tetracarboxylic dianhydrides of the polyamic acid A, there can be used an alicyclic tetracarboxylic dianhydride alone, an aliphatic tetracarboxylic dianhydride alone, or a combination of these tetracarboxylic dianhydrides. Other than these, an aromatic tetracarboxylic dianhydride, which will be described later, may be added in an amount so as not to deviate from the scope of the present invention. Such an amount is 90 mole % or less, preferably 80 mole % or less.

On the other hand, although pyromellitic dianhydride is preferably used as the aromatic tetracarboxylic dianhydride of the polyamic acid B, there may be used, excepting pyromellitic dianhydride, aromatic tetracarboxylic dianhydrides such as 3,3',4,4'-diphenyl tetracarboxylic dianhydride, 3,3',4,4'-benzophenonetetracarboxylic dianhydride, naphthalic dianhydrides (2,3,6,7-naphthalic dianhydride etc.), 3,3',4,4'-biphenylsulphonictetracarboxylic dianhydride,

3,3',4,4'-biphenylethertetracarboxylic dianhydride,
3,3',4,4'-dimethyldiphenylsilane tetracarboxylic
dianhydride,
4,4'-bis(3,4-dicarboxyphenoxy)diphenylsulfide dianhydride,
5 4,4'-bis(3,4-dicarboxyphenoxy)diphenylsulphone dianhydride,
4,4'-bis(3,4-dicarboxyphenoxy)diphenylpropane dianhydride,
3,3',4,4'-perfluoropyridenediphthalic dianhydride,
3,3',4,4'-biphenyltetracarboxylic dianhydride,
bis(phthalic)phenylsulphineoxide dianhydride, p-phenylene-
10 bis(triphenylphthalic) dianhydride,
m-phenylene-bis(triphenylphthalic) dianhydride,
bis(triphenylphthalic)-4,4'-diphenylether dianhydride, or
bis(triphenylphthalic)-4,4'-diphenylmethane dianhydride.
Of these compounds, those containing oxygen or sulfur are not
15 preferred because they tend to degrade electrical properties,
but they may be used under certain conditions.

Since the polyamic acid B is a component that determines
the pre-tilt angle and alignment of liquid crystals, these
properties should be regarded more important than electrical
20 properties. In this sense, alicyclic tetracarboxylic
dianhydrides and aliphatic tetracarboxylic dianhydrides
present somewhat of a problem in the ability of controlling
alignment, and in the case of low-temperature baking at
180°C or below, they present a problem in the stability of
25 alignment in that alignment decays easily. In this regard,

aromatic tetracarboxylic dianhydrides excel in the stability of alignment. Therefore, the acid component of the polyamic acid B preferably contains 50 mole % or more aromatic tetracarboxylic dianhydrides. On the other hand, since the combined use of alicyclic and aliphatic tetracarboxylic dianhydrides is rather favorable for electrical properties, when the electrical properties are regarded important, the combined use to the extent where the alignment is not affected is preferred.

10 As the diamine component of the polyamic acid A, the aromatic diamines represented by the general formula (1) are used.

These diamine compounds having 3 to 5 rings have larger molecular weights than those having a single or two rings. Therefore, in a polyamic acid formed by the polymerization reaction of such a diamine compound with a tetracarboxylic dianhydride, the weight percentage of imide groups in the polymer is relatively lower than in two-ring diamine compounds. On the other hand, since imide groups present in the polymer have a high polarity and tend to degrade electrical properties, diamine compounds that reduce the weight percentage of imide groups are preferred from the viewpoint of electrical properties. These types of diamine compounds having 3 to 5 rings are the bases of the diamine component of aligning films according to the present invention, and are preferably used

15
20
25

as the main diamine component in the polyamic acid A. As X_1 and Y_1 in formula (1), an alkyl group, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a single bond, which have relatively small polarities, are advantageous from the point of view of electrical properties, and an oxygen atom, S, or SO_2 does not affect the achievement of the object of the present invention.

Specifically, examples of the compounds in which n_1 is 0 are as follows:

- 1,4'-bis-(4-aminophenoxy)benzene, and
10 1,4'-bis-[(4-aminophenyl)methyl]benzene.

Examples of the compounds in which Y_1 is CH_2 and n_1 is 1 are as follows:

- 4,4'-bis-((4-aminophenyl)methyl)biphenyl,
bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]ether,
15 2,2-bis-4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)propane,
2,2-bis-4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoropropane,
bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]sulfide,
bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]sulfone,
bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]methane,
20 1,2-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]ethane,
1,3-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]propane,
1,4-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]butane,
1,5-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]pentane, and
1,6-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]hexane.

- 25 Examples of the compounds in which Y_1 is an oxygen atom

and n_1 is 1 are as follows:

- 4,4'-bis-(4-aminophenoxy)biphenyl,
bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]ether,
2,2-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]propane,
5 bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]sulfide,
bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]sulfone,
bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]methane,
1,2-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]ethane,
1,3-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]propane,
10 1,4-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]butane,
1,5-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]pentane, and
1,6-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]hexane.

Examples of the compounds in which n_1 is 2 are as follows:

- 1,4-bis-[4-(4-aminophenoxy)phenoxy]benzene,
15 1,4-bis-[(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)methyl]benzene,
and
1,4-bis-[3-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)propyl]
benzene.

- Compounds other than those exemplified above but
20 represented by formula (1) fall within the scope of the present
invention.

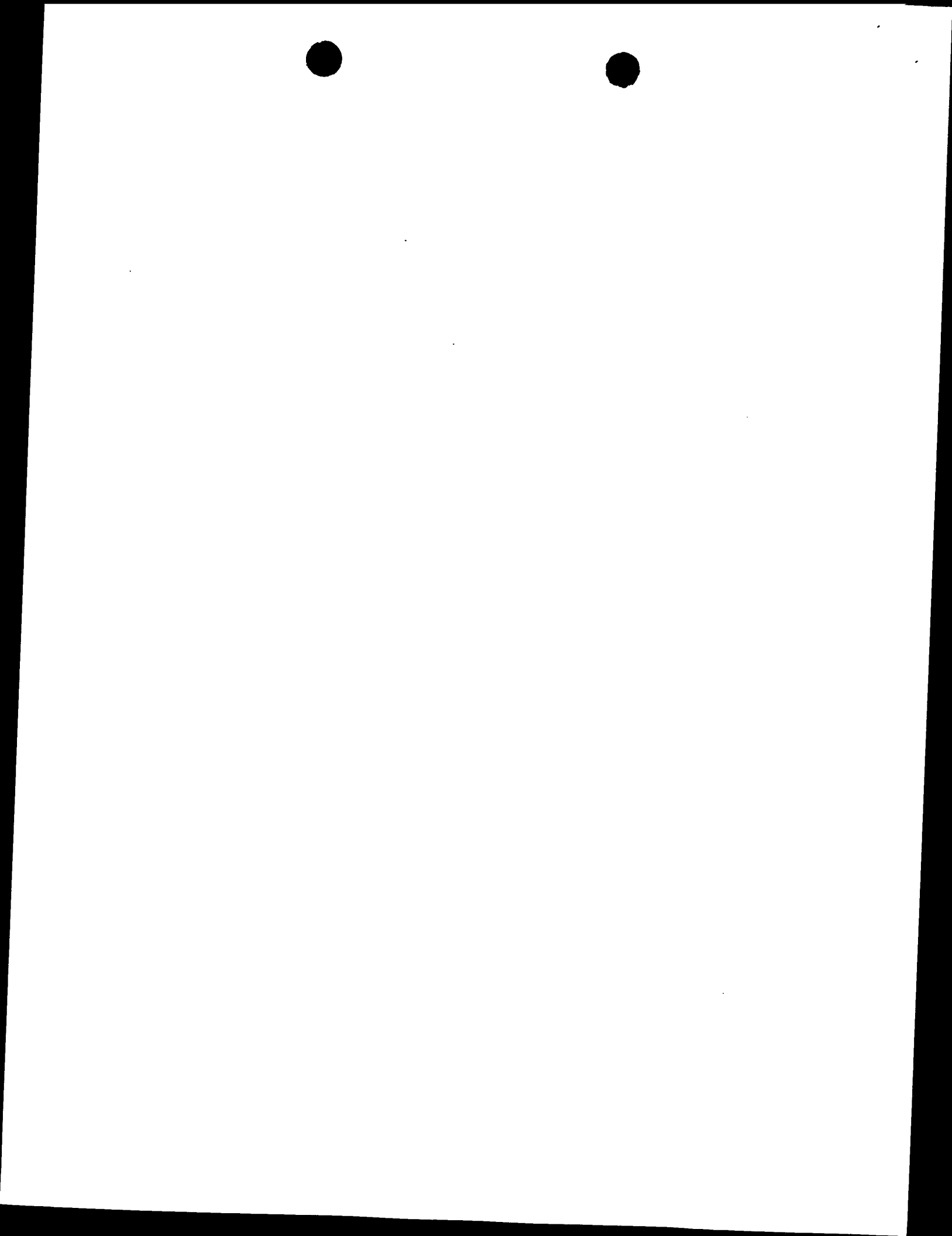
- In addition to these, diamines represented by formulas
(2), (3), and (4) described above may be added as required.
However, the amount of a diamine represented by formula (1)
25 preferably exceeds 50 mole %.



The essential diamine component of the polyamic acid B is at least one diamine compound having a side chain which increases the pre-tilt angle of the liquid crystal molecule. The diamine component having a side chain means a diamine component having an axis in the lateral direction relative to the main axis of the polyimide or the polyamic acid structure. For example, it means a diamine component having a side chain from the linking group of the main axis; or having a group in the lateral direction from the aromatic or alicyclic group in the main axis. Examples of diamine components having side chains which increase the pre-tilt angle of the liquid crystal molecules are shown in the following formula (2).

Specifically, examples of the compounds in which both l and m are 0; n_2 is 1; and Y_2 is an oxygen atom are as follows:

- 15 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-methylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-ethylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-propylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-butylcyclohexane,
- 20 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-pentylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-hexylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-heptylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-octylcyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-nonylcyclohexane,
- 25 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-decylcyclohexane,



- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-undecylcyclohexane,
1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-dodecylcyclohexane,
1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-tridecylcyclohexane,
1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-
5 tetradecylcyclohexane,
1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-n-
pentadecylcyclohexane, and the like.

Examples of the compounds in which l, m, and n₂ are all
0 are as follows:

- 10 1,1-bis(4-aminophenyl)cyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-methylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-ethylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-propylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-butylcyclohexane,
15 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-pentylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-hexylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-heptylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-octylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-nonylcyclohexane,
20 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-decylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-undecylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-dodecylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-tridecylcyclohexane,
1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-tetradecylcyclohexane,
25 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-n-pentadecylcyclohexane, and the



like.

Examples of the compounds in which l is 1; ring A is a cyclohexyl group; and both m and n_2 are 0 are as follows:

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-cyclohexylcyclohexane,

5 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-methyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-ethyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-propyl-*trans*-cyclohexyl)
10 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-butyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-pentyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

15 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-hexyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-heptyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-octyl-*trans*-cyclohexyl)

20 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-nonyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-decyl-*trans*-cyclohexyl)
cyclohexane,

25 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-*n*-undecyl-*trans*-cyclohexyl)



cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-n-docecyl-trans-cyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-n-tridecyl-trans-cyclohexyl)

5 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-n-tetradecyl-trans-cyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(4-n-pentadecyl-trans-cyclohexyl)

cyclohexane, and the like.

10 Examples of the compounds in which l is 1; ring A is a cyclohexyl group; m is 0, n₂ is 1; and Y₂ is an oxygen atom are as follows:

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(cyclohexyl)

cyclohexane,

15 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-methylcyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-ethylcyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-propylcyclohexyl)

20 cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-butylcyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-pentylcyclohexyl)

cyclohexane,

25 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-hexylcyclohexyl)



cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-heptylcyclohexyl)

cyclohexane,

1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(4-octylcyclohexyl)

5 cyclohexane, and the like.

Examples of the compounds in which both l and m are 1;
ring A is a cyclohexyl group; Z₁ is CH₂; and n₂ is 0 are as follows:

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(cyclohexylmethyl)cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-methylcyclohexyl)methyl]

10 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-ethylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-propylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane,

15 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-butylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-pentylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-hexylcyclohexyl)methyl]

20 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-heptylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-octylcyclohexyl)methyl]

cyclohexane, and the like.

25 Examples of the compounds in which both l and m are 1;

ring A is a phenyl group; Z_1 is CH_2 ; n_2 is 1; and Y_2 is an oxygen atom are as follows:

- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-(phenylmethyl)
cyclohexane,
- 5 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-methylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-ethylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-propylphenyl)
10 methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-butylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-pentylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 15 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-hexylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-heptylphenyl)
methyl]cyclohexane,
- 1,1-bis[4-(4-aminophenoxy)phenyl]-4-[(4-octylphenyl)
20 methyl]cyclohexane, and the like.

Examples of the compounds in which l and m are 1; ring A is a phenyl group; Z_1 is CH_2 ; and n_2 is 0 are as follows:

- 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-(phenylmethyl)cyclohexane,
- 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-methylphenyl)methyl]
25 cyclohexane,



1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-ethylphenyl)methyl]
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-propylphenyl)methyl]
cyclohexane,

5 1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-butylphenyl)methyl]
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-pentylphenyl)methyl]
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-hexylphenyl)methyl]

10 cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-heptylphenyl)methyl]
cyclohexane,

1,1-bis(4-aminophenyl)-4-[(4-octylphenyl)methyl]
cyclohexane, and the like.

15 Examples of the compounds in which both l and m are 1;
ring A is a phenyl group; Z₁ is CH₂; n₂ is 1; and Y₂ is CH₂ are
as follows:

1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-(phenylmethyl)
cyclohexane,

20 1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-
methylphenyl) methyl]cyclohexane,

1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-
ethylphenyl) methyl]cyclohexane,

1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-
25 propylphenyl) methyl]cyclohexane,



- 1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-butylphenyl) methyl]cyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-pentylphenyl) methyl]cyclohexane,
5 1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-hexylphenyl) methyl]cyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-heptylphenyl) methyl]cyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-[(4-octylphenyl) methyl]cyclohexane, and the like.
10

Examples of the compounds in which both l and m are 0;

n_2 is 1; and Y_2 is CH_2 are as follows:

- 1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)cyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-
15 methylcyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-ethylcyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-propylcyclohexane,
20 1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-butylcyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-pentylcyclohexane,
1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-
25 hexylcyclohexane,



1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-heptylcyclohexane,

1,1-bis(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)-4-octylcyclohexane, and the like.

- 5 Compounds not listed above but represented by formula (2) fall within the scope of the present invention.

Of these compounds, for example, when both m and l are 0, when R₁ is a hydrogen atom, or when the length of the alkyl group is short, since the slope of the pre-tilt angle versus
10 the quantity of the polyamic acid B is gentle and positive and a relatively large quantity of the polyamic acid B is required before equilibrium is reached, the length of the alkyl group is preferably not short. On the other hand, when two or more rings are present in the side chain, good results are obtained
15 even if R₁ is a hydrogen atom. In the present invention, the use of a large quantity of the polyamic acid B in relation to the quantity of the polyamic acid A is not preferred.

As diamine compounds that increase the pre-tilt angle, there can be used compounds represented by formula (3),
20 aromatic diamine compounds whose hydrogen atoms are substituted by alkyl groups or mesogen groups (liquid crystal groups), or other diamine components which increase the tilt angle of the liquid crystal aligning films. For these components, a large variety of diamine components have already
25 been known from published patents and the like.



Examples of diamine components which can be used in the present invention that have side chains and increase the pre-tilt angle include the following diamine compounds, but are not limited to these examples, and other diamine compounds that increase the pre-tilt angle can be used so long as the advantages of the present invention are not affected.

Also in formula (3), the Y_3 component is preferably an aliphatic group rather than an ether, ester, or ketone group because of the excellent electrical properties. Also, if the number of carbon atoms in R_2 and R_3 is small, the slope of the pre-tilt angle versus the quantity of the polyamic acid B is gentle and positive. Therefore, preferably at least one of R_2 and R_3 has three or more carbon atoms.

Specific examples of these compounds include the following compounds, but other compounds represented by formula (3) fall within the scope of these compounds.

Examples of compounds in which Y_3 is an oxygen atom and n_3 is 1 are as follows:

- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]pentane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]hexane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]heptane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]octane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]nonane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]decane,
- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]undecane,



- 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]dodecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]tridecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]tetradecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]pentadecane,
5 2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]hexadecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]heptadecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]octadecane,
2,2-bis-[4-(aminophenoxy)phenyl]nonadecane, and the like.

Examples of compounds in which Y_3 is CH_2 and n_3 is 1 are
10 as follows:

- 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)pentane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)hexane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)heptane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)octane,
15 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)nonane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)decane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)undecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)dodecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)tridecane,
20 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)tetradecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)pentadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)hexadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)heptadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)octadecane,
25 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)nonadecane,



- 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoropentane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorohexane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoroheptane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorooctane,
5 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorononane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorodecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoroundecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorododecane,
10 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorotridecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorotetradecane,
15 2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoropentadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluorohexadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoro
20 heptadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoro
octadecane,
2,2-bis-(4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl)perfluoro
nonadecane.

- 25 Excepting the above compounds, examples of diamine



compounds of the form of phenylene diamine having a side chain are as follows:

- 1,4-diamino-3-((4-alkylcyclohexyl)cyclohexyloxy)benzene,
 - 1,4-diamino-3-((4-alkylphenyl)cyclohexyloxy)benzene,
 - 5 1,4-diamino-3-((4-alkylterphenyl)oxy)benzene,
 - 1,3-diamino-5-perfluoroalkylbenzene,
 - 1,3-diamino-5-(2-dimethylperfluoro)ethane)benzene,
 - 4-(4-trifluoromethylphenoxy)-2,3-diaminobenzene,
 - 4-(4-fluorophenoxy)-1,3-diaminobenzene,
 - 10 4-[3-(4-biphenyloxy)alkoxy-1,3-diaminobenzene,
 - 4-[3-(4-trifluoromethoxybiphenyl-4-oxy)alkoxy-1,3-diaminobenzene,
 - 1,4-diamino-(2-alkyl)benzene,
 - 1,4-diamino-(2,5-dialkyl)benzene,
 - 15 2-alkyloxy-1,4-diaminobenzene,
- and other diamine compounds having a phenylene diamine backbone with a steroid-based side chain and the like.

Even in the case of phenylene diamine compounds, a group constituting the side chain having 3 or more carbon atoms is
20 more preferable than that having 1 or 2 carbon atoms, because such a group can easily increase the pre-tilt angle.

As described above, the essential diamine component of the polyamic acid B is at least one of diamine compounds having a side chain which increases the pre-tilt angles of liquid
25 crystal molecules, but there may also be used, for example,

the combination of at least one of diamine compounds represented by formula (1) or/and at least one of diamine compounds represented by formula (4).

Specific examples of these compounds include the following compounds, but other compounds represented by formula (4) fall within the scope of these compounds.

Examples of these compounds include the following:

When R_1 is a hydrogen atom: 4,4'-diaminodiphenylmethane, 4,4'-diamino-1,2-diphenylethane, 4,4'-diamino-1,3-diphenylpropane, and 2,2-bis-(4-aminophenyl)propane;
When R_1 is a methyl radical: bis-(4-amino-3-methylphenyl)methane, 1,2-bis-(4-amino-3-methylphenyl)ethane, 1,3-bis-(4-amino-3-methylphenyl)propane, bis-(4-amino-2-methylphenyl)methane, 1,2-bis-(4-amino-2-methylphenyl)ethane, and 1,3-bis-(4-amino-2-methylphenyl)propane.

In addition to these tetracarboxylic dianhydrides and diamines, monoamino compounds or/and monocarboxylic anhydride compounds which constitute the reacting end groups of the polyamic acids may be used in combination. In order to enhance the adhesion to the substrate, aminosilicon compounds or diaminosilicon compounds may be introduced.

Aminosilicon compounds include p-aminophenyl trimethoxysilane, p-aminophenyl triethoxysilane, m-aminophenyl trimethoxysilane, m-aminophenyl triethoxysilane,

aminopropyl trimethoxysilane, and aminopropyl triethoxysilane.

Diaminosilicon compounds include 1,3-bis(3-aminopropyl)-1,1,3,3-tetraphenyl disiloxane, 1,3-bis(3-aminopropyl)-1,1,3,3-tetramethyl disiloxane, and 1,3-bis(4-aminobutyl)-1,1,3,3-tetramethyl disiloxane.

The diamine components used in the polyamic acid B comprise a diamine selected from diamines represented by formulas (1) and (4), and a diamine selected from those that increase the pre-tilt angle of liquid crystals (diamines represented by formulas (2) and (3)), the content being determined by the type of diamines that increase pre-tilt angles (in general, diamine compounds having longer side chains have larger pre-tilt angles), and required pre-tilt angles. Normally, the content of the latter is 3 to 100 mole %, preferably 20 to 80 mole %, and more preferably 30 to 50 mole %. If the diamine components increasing the pre-tilt angle affect the electrical properties of the liquid crystal, the use of such a diamine should be limited to the minimum quantity for obtaining a required tilt angle. Use of diamines that increase the pre-tilt angle to a greater extent reduces the quantity of such diamines.

Although the ratio A/B of the quantity of the polyamic acid A to the polyamic acid B may be any ratio within the range of 50/50 to 95/5 (by weight), the process dependence of the pre-tilt angle tends to increase if the content of the polyamic



acid B is low. Therefore, the above range of ratios was determined in consideration of the balance of the process dependence of the pre-tilt angle and electrical properties.

Typically, the polyamic acid of the present invention is dissolved in a solvent, and the solution is used as an application solution. Although the polymer content (the total of the polyamic acid A and the polyamic acid B) in the application solution is any value from 0.1 to 40% by weight, the optimum content of the polymer component differs depending on the method for applying the alignment agent varnish to a substrate, and cannot be determined within a certain range. For the spinner method or the printing method normally employed, the content of the polymer component is preferably 0.5 to 10% by weight. If the polymer content is less than 0.5% by weight, the thickness of the aligning film becomes too thin, and if the content is more than 10% by weight, the thickness becomes too thick. The polymer content of 40% by weight or more is often not preferable because the viscosity is too high, and the solvent cannot be mixed well when the polymer is diluted.

Polymers such as other polyamic acids, polyamic esters, soluble polyimide, and polyamideimide may be used in combination with the polyamic acid A and the polyamic acid B unless the advantages of the present invention are impaired. Furthermore, a liquid crystal alignment agent containing more than one polyamic acid is used in the present invention. This



alignment agent is imidized by heating. (Although the alignment agent is not required to be fully imidized, the imidization percentage after heating is preferably 40% or more.) Therefore, the same advantages are expected if a
5 soluble polyimide A and a soluble polyimide B previously imidized are used in place of the polyamic acids A and B of the present invention. That is, the polyamic acid component of the present invention may comprise both polyamic acids, a soluble polyimide for one and a polyamic acid for the other,
10 or soluble polyimides for both.

The solvent used for the varnish may normally be any solvent used for polyamic acids or soluble polyimides. Specifically, a non-protonic organic solvent that has affinity for polyamic acids (N-methyl-2-pyrrolidone,
15 dimethylimidazolidinone, N-methylcaprolactam, N-methylpropionic acid amide, N,N-dimethylacetamide, dimethyl sulfoxide, N,N-dimethylformamide, N,N-diethylformamide, N,N-diethylacetamide, γ -butyrolactone, etc.) may be combined with other low-surface-tension solvent systems (alkyl
20 lactates, 3-methyl-3-methoxy butanol, tetralin, isophorone, ethylene glycol monoalkyl ethers (e.g. ethylene glycol monobutyl ether), diethylene glycol monoalkyl ethers (e.g. diethylene glycol monoethyl ether), ethylene glycol monoalkyl or phenyl acetate, triethylene glycol monoalkyl ethers,
25 propylene glycol monoalkyl ethers (e.g. propylene glycol



monobutyl ether), dialkyl malonates (e.g. diethyl malonate), ethylene glycol monoalkyl acetates, diethylene glycol monoalkyl acetates, propylene glycol monoalkyl acetates, dipropylene glycol monoalkyl acetates, etc.) for improving the ease of application or other purposes. These solvents are often poor solvents compared with the previously mentioned solvents. For improvement of ease of application, combined use with these solvents is preferred.

As the method for applying the varnish dissolved with these solvents to a substrate forming a liquid crystal alignment element, there may be used any method normally employed. For example, the spinner method, the printing method, the dipping method, or the dropping method may be used for the application of such varnish.

Also, in heat treatment required for drying, or in dehydration or ring forming reactions, the same method as that for polyamic acids may be used. For example, heat treatment may be performed through the use of an oven, hot plate, or infrared furnace. After application of the varnish, preferably the solvent is evaporated at a relatively low temperature and heat treatment is performed at a temperature between 150 and 300°C. In the varnish of the present invention, there may be added a catalyst for promoting imidization, as well as a surface active agent for improving the ease of application and an anti-static agent for preventing generation

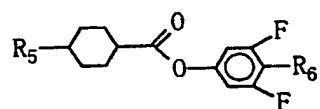
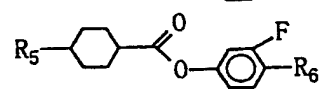
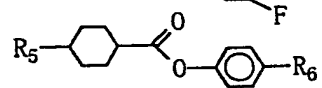
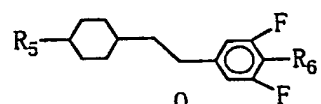
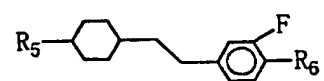
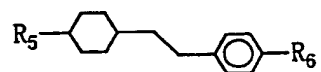
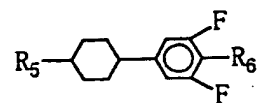
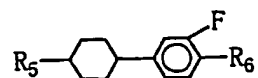
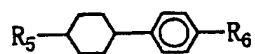
of static electricity. Furthermore, a silane coupling agent or a titanium-based coupling agent may be added for improving adhesion with the substrate.

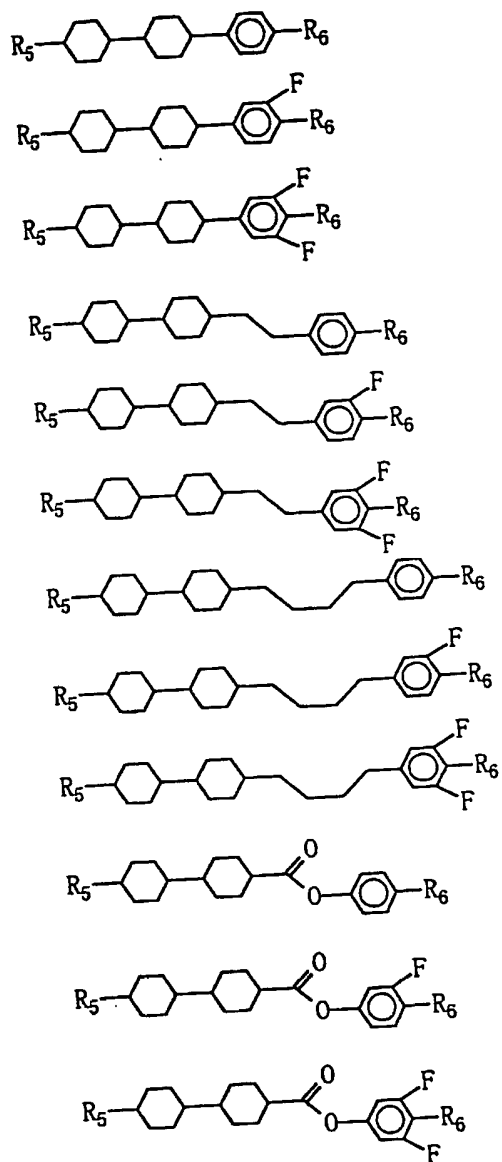
Although the present invention addresses an aligning film
5 favorably used particularly in low-voltage-type STN-mode liquid crystal display elements, it may be used in other display elements such as TFT-mode elements.

Examples of specific liquid crystal compositions preferably used in the present invention in combination with
10 this aligning film include compositions containing at least one compound selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7).

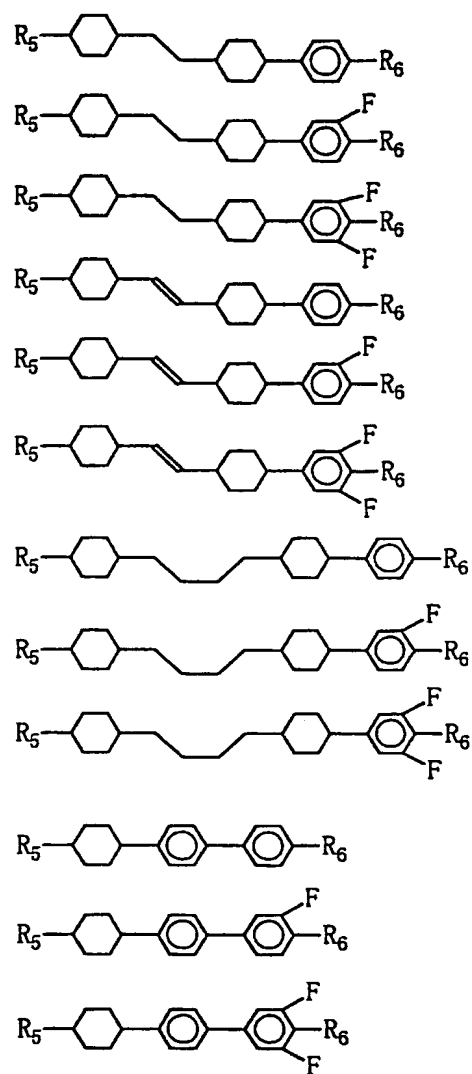
Specific compounds are shown below; however, since not all the compounds represented by formulas (5), (6), and (7)
15 can be shown, only examples of these compounds are shown. Therefore, compounds not shown here but represented by formulas (5), (6), and (7) fall within the scope of the present invention.



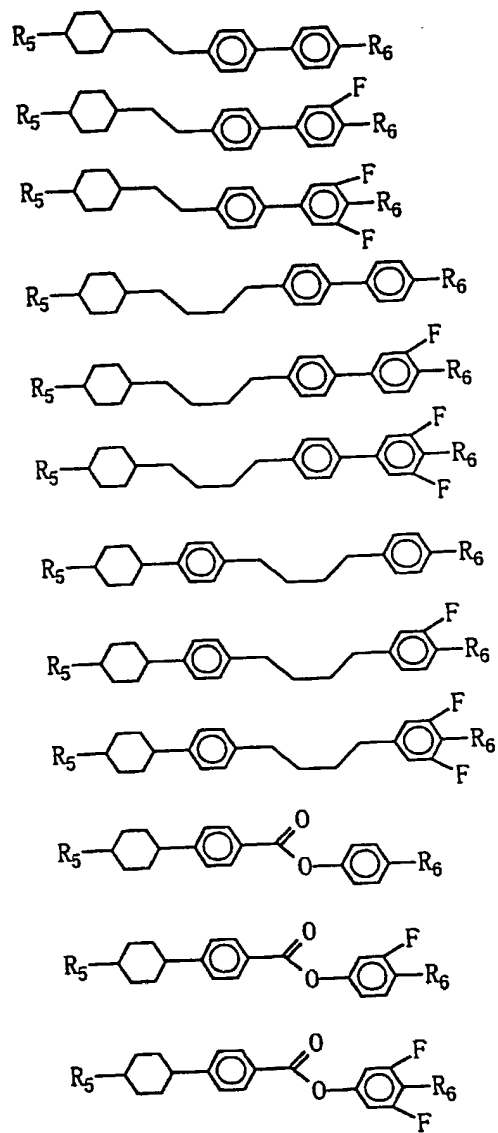




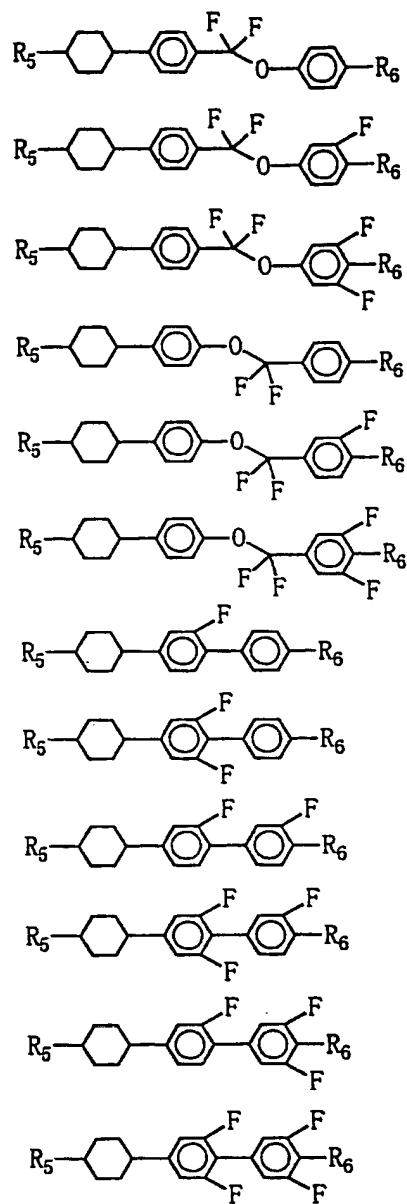




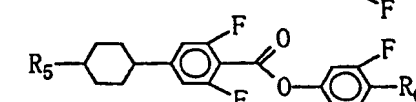
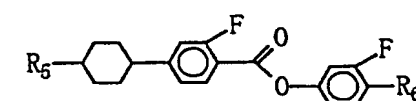
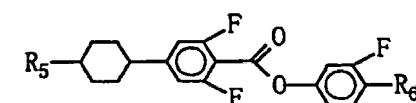
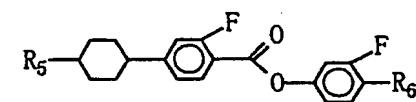
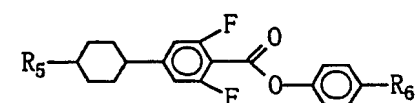
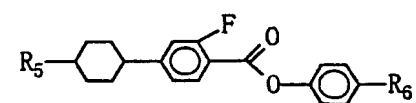
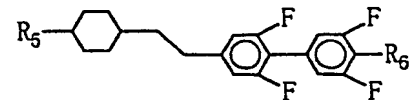
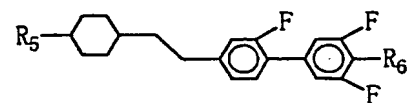
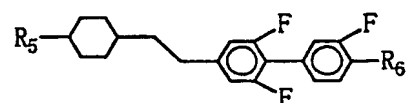
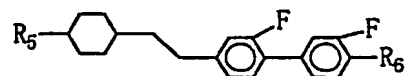
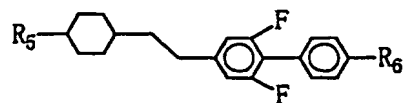
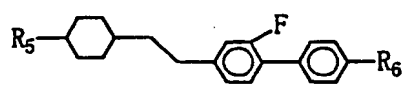




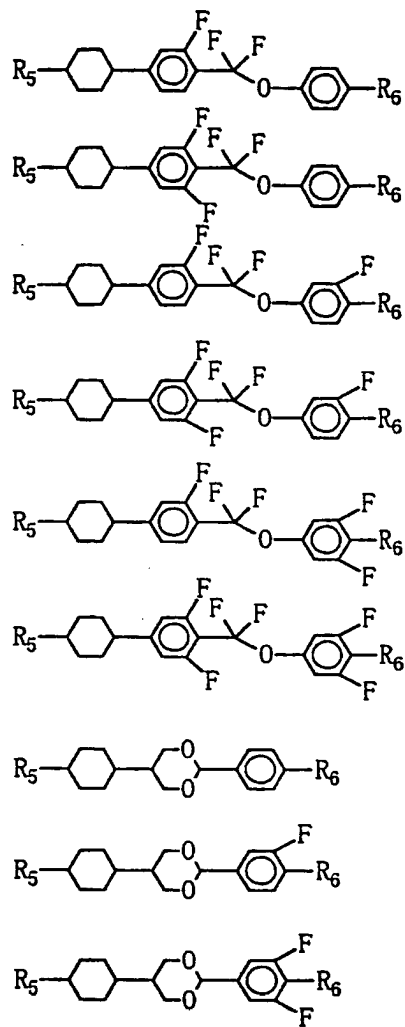




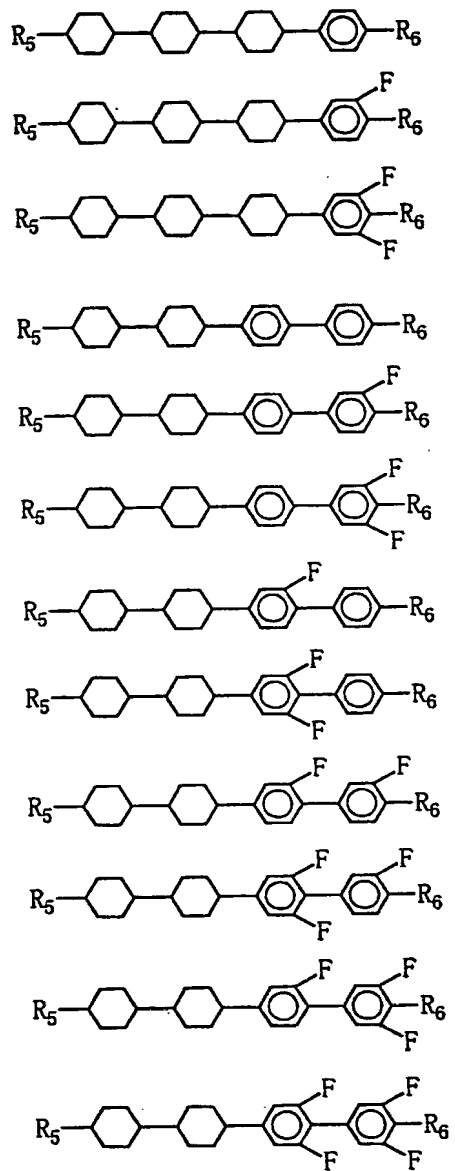




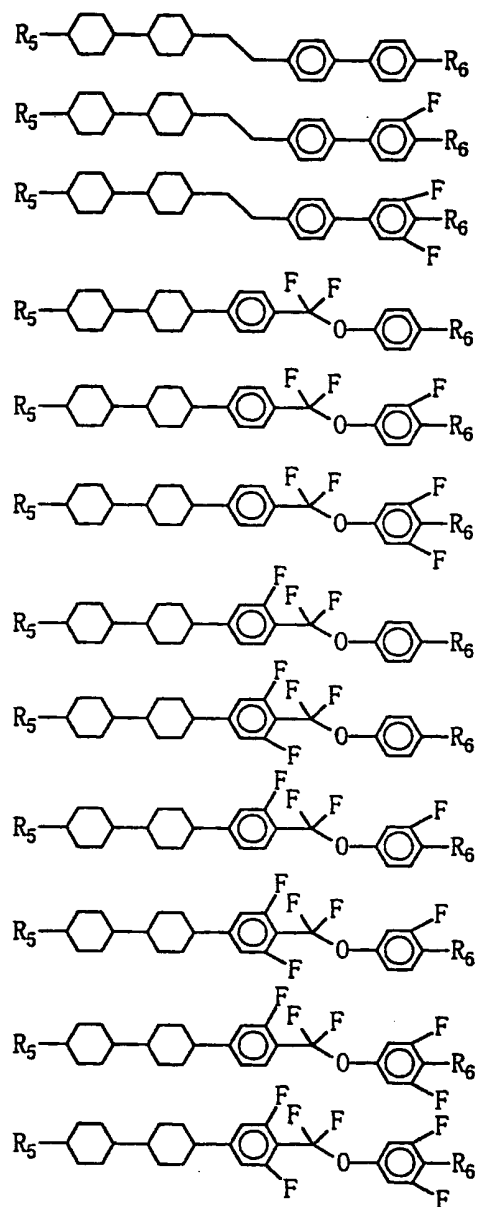










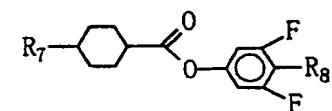
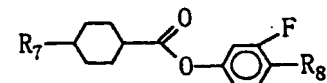
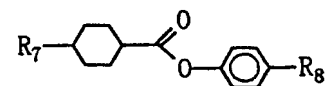
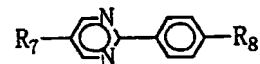
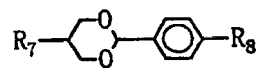
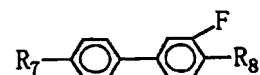
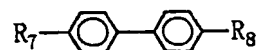
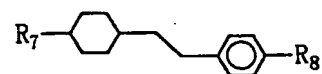
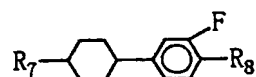
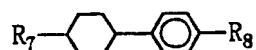
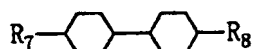




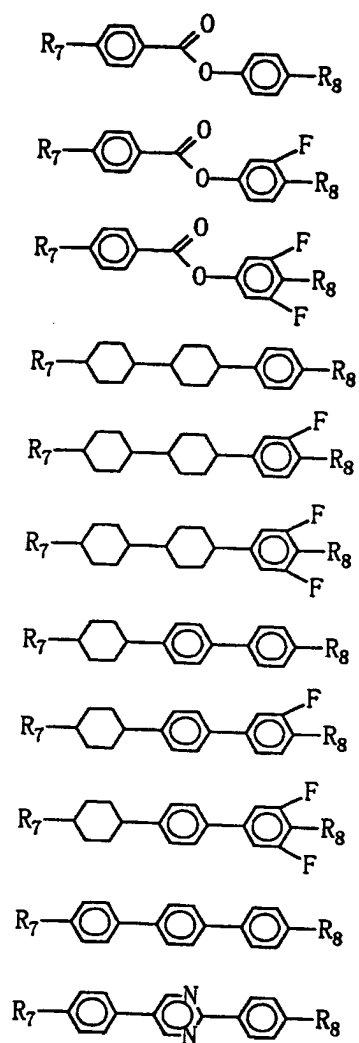
The examples also include liquid crystal compositions of at least one compound selected from those represented by general formulas (8) and (9).

5 Specific compounds are shown below; however, since not all the compounds represented by formulas (8) and (9) can be shown, only examples of these compounds are shown. Therefore, compounds not shown here but represented by formulas (8) and (9) fall within the scope of the present invention.

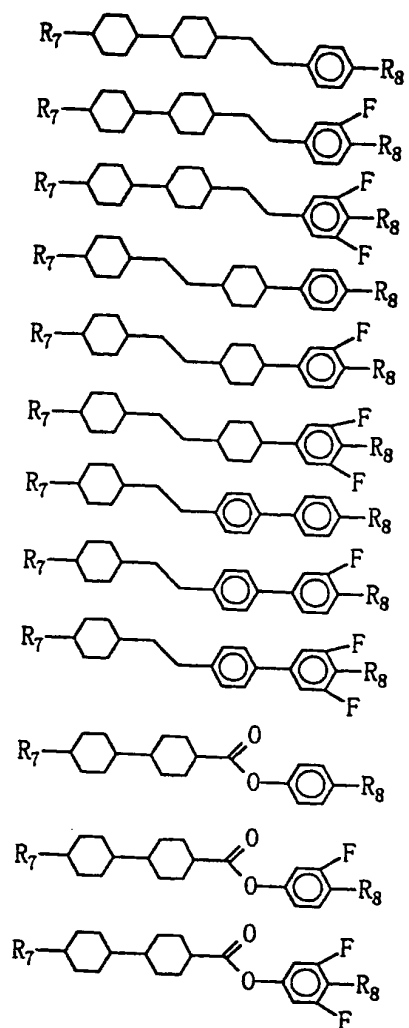
10



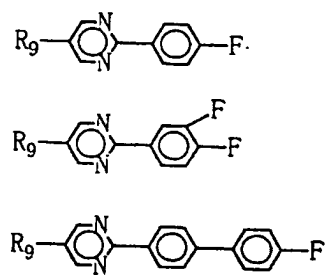
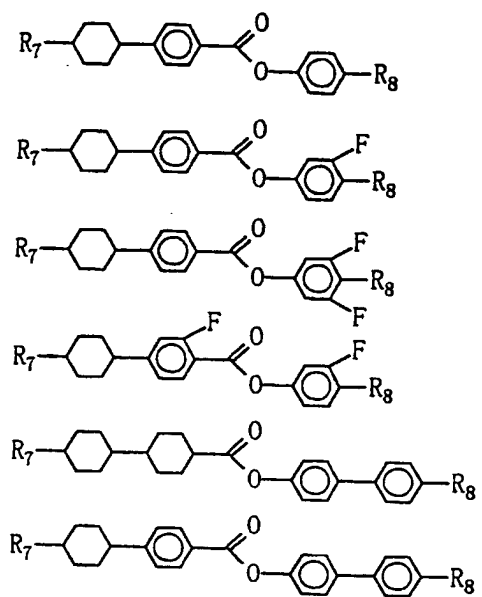










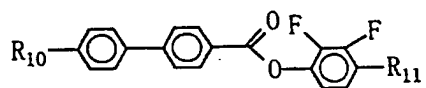
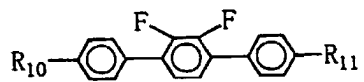
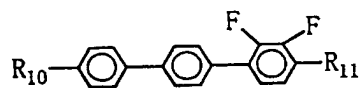
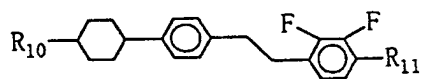
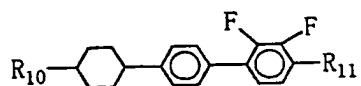
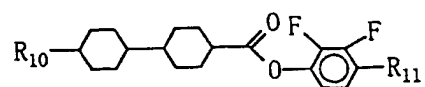
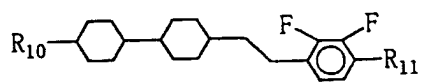
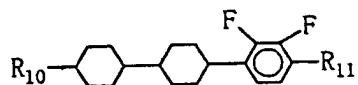
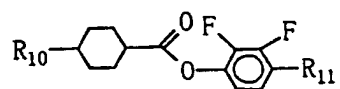
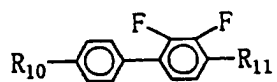
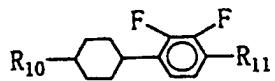




The examples also include liquid crystal compositions of at least one compound selected from those represented by general formulas (10), (11), and (12).

5 Specific compounds are shown below; however, since not all the compounds represented by formulas (10), (11), and (12) can be shown, only examples of these compounds are shown. Therefore, compounds not shown here but represented by formulas (10), (11), and (12) fall within the scope of the present
10 invention.



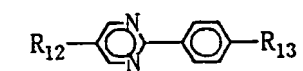
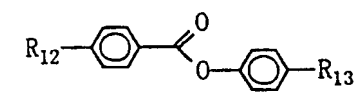
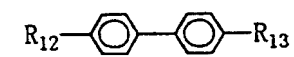
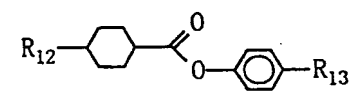
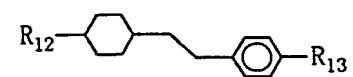
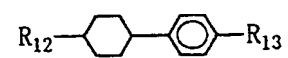
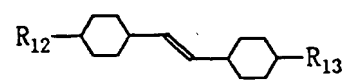
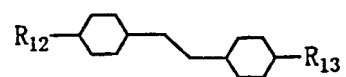
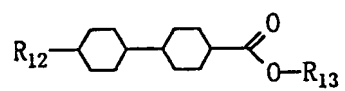
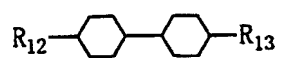




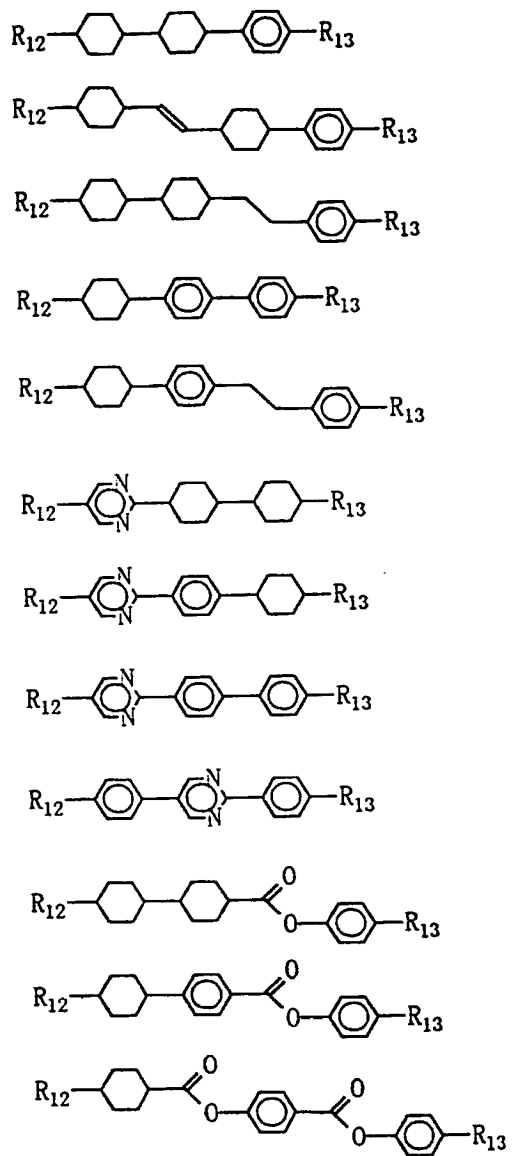
The examples also include liquid crystal compositions containing as the first component thereof at least one compound selected from those represented by the general formulas (5),
5 (6), and (7) described above, and as the second component thereof at least one compound selected from those represented by the general formulas (13), (14), and (15).

Specific compounds are shown below; however, since not all the compounds represented by formulas (13), (14), and (15)
10 can be shown, only examples of these compounds are shown. Therefore, compounds not shown here but represented by formulas (13), (14), and (15) fall within the scope of the present invention.

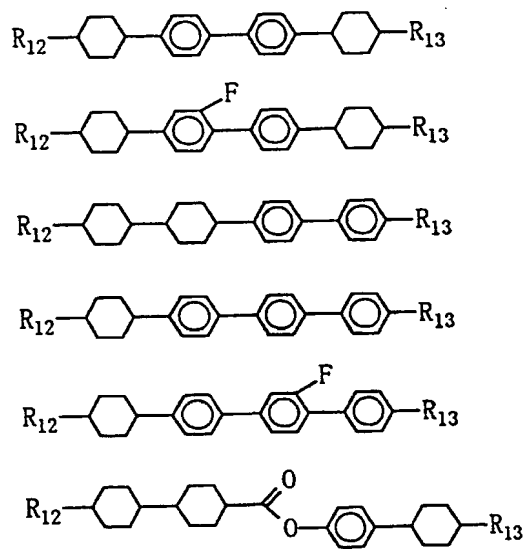
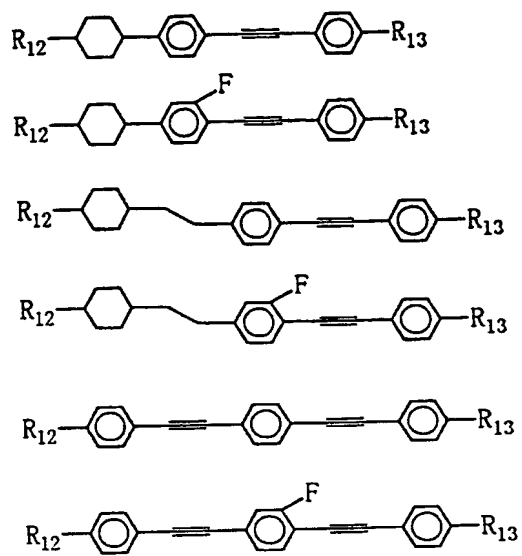














The examples also include liquid crystal compositions containing as the first component thereof at least one compound selected from those represented by the general formulas (8) and (9) described above, and as the second component at least
5 one compound selected from those represented by the general formulas (13), (14), and (15).

The examples also include liquid crystal compositions containing as the first component thereof at least one compound selected from those represented by the general formulas (10),
10 (11) and (12) described above, and as the second component thereof at least one compound selected from those represented by the general formulas (13), (14), and (15).

The examples also include liquid crystal compositions containing as the first component thereof at least one compound
15 selected from those represented by the general formulas (5), (6), and (7) described above, as the second component at least one compound selected from those represented by the general formulas (8) and (9) described above, and as the third component at least one compound selected from those represented by the
20 general formulas (13), (14), and (15) described above.

One or more optically active compound may be contained in the above liquid crystal composition without raising any problem.

Examples

25 (Synthesis of polyamic acids A, B, and copolyamic acid C)

Before examples of the synthesis of various polyamic acids corresponding to the polyamic acids A, B, and copolyamic acid C are described, the names and abbreviations of tetracarboxylic dianhydrides, diamine compounds, and solvents will be shown
5 below. The abbreviations will be used in the following description.

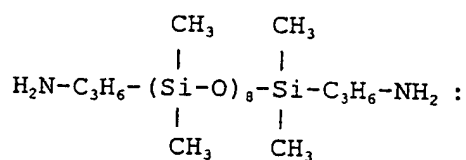
(Tetracarboxylic dianhydrides)

	Pyromellitic dianhydride:	PMDA
	Cyclobutane tetracarboxylic dianhydride:	CBDA
10	Butane tetracarboxylic dianhydride:	BDA

(Diamines)

	1,3-bis-[4-((4-aminophenyl)methyl)phenyl]propane:	DPMPP
	2,2-bis-[(4-(4-aminophenoxy)phenyl]propane:	DPPP
15	Bis-[4-(4-aminophenoxy)phenyl]sulfone:	DPPS
	4,4'-diaminodiphenylmethane:	DPM
	4,4'-diaminophenylether:	DPEr
	1,1-bis(4-aminophenoxy)phenyl-4-(4-pentylcyclohexyl) cyclohexane:	PPPCC





FM3307

5

(Solvent components)

N-methyl-2-pyrrolidone:

NMP

Butyl cellosolve:

BC

(Synthesis of polyamic acid A1)

10 In a 200-ml four-neck flask having a inlet for inserting a thermometer, a inlet for inserting a stirrer, a inlet for feeding the materials, and a inlet for introducing nitrogen gas, 4.0408 g of DPMPP was dissolved in 44.00 g of dehydrated NMP with stirring under a stream of dry nitrogen gas. While

15 the temperature of the reaction system was maintained at 5 to 70°C, 0.9846 g of BDA and 0.9746 g of CBDA were successively added, reaction was allowed to proceed for 5 to 30 hours, then 50.00 g of BC was added to obtain the polyamic acid A1 having a polymer content of 6% by weight. When the temperature was

20 elevated due to the heat of reaction of the materials, the reaction temperature was lowered to 70°C or below and the reaction was continued. In the embodiment of the present invention, the viscosity of the polyamic acid was checked during reaction, and when the viscosity after the addition of

25 BC rose to 55 to 65 mPa·s (E-type viscometer, at 25°C), the reaction was stopped, and the resultant polyamic acid A1 was stored at low temperature.



(Synthesis of various polyamic acid A components, various polyamic acid A components, and copolyamic acid C components)

Polyamic acids A2 to A7, B1 to B11, and copolyamic acids C1 and C2 were synthesized in the same manner as for the polyamic acid A1. That is, the initial polyamic acid was synthesized by use of NMP alone, then BC was added to adjust the final polyamic acid content to 6% by weight.

The mole percentage of each material is shown in Table 1.

Table 1 Mole ratios of materials for Examples

Synthetic Example	Tetracarboxylic dianhydride			Diamine compound						
	PMDA	CBDA	BDA	DPMPP	DPPP	DPSP	DPM	DPER	PPCC	FM3307
A1		25	25	50						
A2		25	25		50					
A3		25	25			50				
A4	50			50						
A5	25	25		50						
A6	25		25	50						
A7		25	25					50		
B1	50			32.5					17.5	
B2	50								50	
B3	50				32.5				17.5	
B4	50					32.5			17.5	
B5	50						32.5		17.5	
B6	25	25		32.5					17.5	
B7	50							32.5	17.5	
B8	50								25	25
B9		50		32.5					17.5	
B10			50	32.5					17.5	
B11	20	30		32.5					17.5	
C1	20	15	15	32.5					17.5	
C2	10	20	20	46.5					3.5	

(Examples 1-5 and Comparative Examples 1-4)

The Examples were prepared from the polyamic acid A1 and the polyamic acid B1 formulated in various ratios. The Comparative Examples were prepared from the polyamic acid A1 alone, the polyamic acid B1 alone, and copolyamic acids C1

and C2 alone. The results of examination of pre-tilt angles and electrical properties are shown.

The polyamic acids having excellent electrical properties in the present invention mean polyamic acids of a small current
5 consumption and long-time, high reliability of current consumption, and specifically, polyamic acids of which current consumption is 1.8 μA or less, and for which increase ratio in current consumption after a 120-hour constant temperature heating test performed at 110°C is 1.4 times or less as
10 determined in the testing method described in the Examples of the present invention.

1) Preparation of varnish

The polyamic acid A1 and the polyamic acid B1 were mixed in the ratios shown in Table 2, and each mixture was diluted
15 with a mixed solvent of NMP and BC (1:1) so that the total polymer content became 3% by weight to form varnish for application. In the Comparative Examples, varnish was prepared in the same manner except that each polyamic acid was used alone.

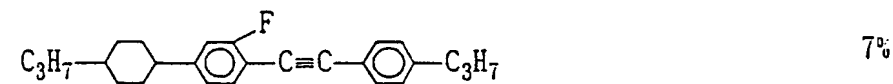
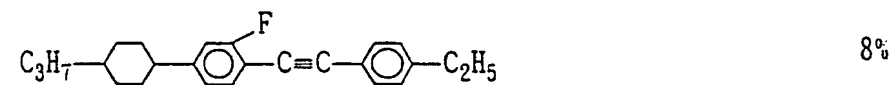
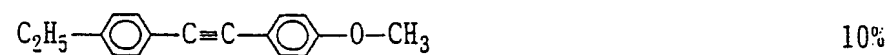
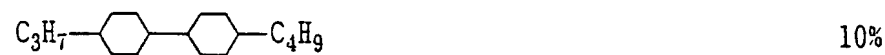
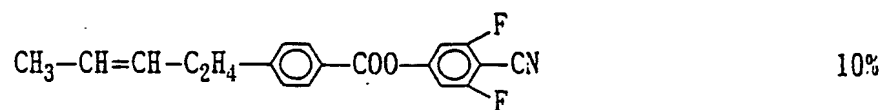
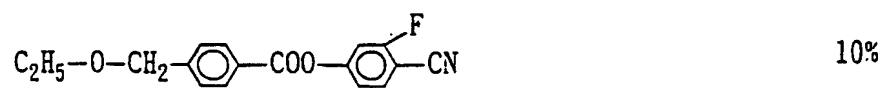
2) Preparation of cells for measuring pre-tilt angles

20 By use of a spinner, the varnish for application was applied onto a glass substrate having a transparent ITO electrode. The substrate was preliminarily baked at 80°C for about 5 minutes, then heat-treated at 200°C for 30 minutes so as to convert the polyamic acid into a polyimide. Next, the
25 surface of the substrate on which an aligning film had been



formed was rubbed with a rubbing apparatus for alignment treatment, and after cleaning in ethanol for 5 minutes by use of an ultrasonic cleaner, the surface was rinsed with a fluorochlorocarbon and flowing water, and dried in an oven at 120°C for 30 minutes. A gap material for forming a 20 μm gap was spread on the substrates, the substrates were assembled with their surfaces on which aligning films had been formed facing in, and the periphery of each substrate was sealed with an epoxy resin to form an anti-parallel cell having a 20 μm gap. A liquid crystal composition was injected into the cell, and the injection hole was sealed with a photo-curing adhesive. Next, the cell was subjected to heat treatment at 110°C for 30 minutes to form a cell for measuring the pre-tilt angle.

The constituents of the liquid crystal compositions used as the material for liquid crystals are shown below. The composition had an NI point of 88.3°C, an anisotropy of refractive index of 0.151, and a threshold voltage of 1.35 V.





3) Measurement of pre-tilt angles

The pre-tilt angles of liquid crystals were measured by the crystal rotation method normally used.

4) Preparation of cells for evaluating electrical properties

5 Cells for evaluating electrical properties were prepared in the same manner as in cells for measuring pre-tilt angles except that a gap material for forming a 7 μm gap was used. The liquid crystal material for evaluating electrical properties was also the same as the material for measuring
10 pre-tilt angles.

5) Evaluation of current consumption

Current consumption was measured by impressing rectangular waves of 10 V, 32 Hz. The electrode area of the cell was 1 cm^2 . First, the initial value of current consumption
15 was measured, and then current consumption after constant temperature heating at 110°C for 120 hours was measured. The value of current consumption after the heating test for 120 hours divided by the initial value was obtained as the aged/initial ratio.

20 The results of pre-tilt angles, and the initial values and the aged/initial ratios of current consumption are shown in Table 2.



Table 2 Pre-tilt angles and electrical properties of various polyamic acids

	Polyamic acid	Mole ratio of materials for polymer component (mole %)	Pre-tilt angle (degrees)	Current consumption	
				Initial (μ A)	Aged/Initial ratio
Example 1	B1/A1= 5/95	A1: CBDA/BDA/DPM = 25/25/50	6.8	1.55	1.23
Example 2	B1/A1=10/90	B1: PMDA/DMPP/PPCC =	7.0	1.55	1.22
Example 3	B1/A1=20/80	50/32.5/17.5	7.5	1.56	1.24
Example 4	B1/A1=30/70		7.5	1.65	1.28
Example 5	B1/A1=50/50		7.5	1.67	1.33
Comp.Ex.1	A1	CBDA/BDA/DMPP = 25/25/50	1.9	1.54	1.22
Comp.Ex.2	B1	PMDA/DMPP/PPCC = 50/32.5/17.5	7.5	1.95	2.32
Comp.Ex.3	C1	PMDA/CBDA/BDA/DMPP/PPCC = 20/15/15/32.5/17.5	2.1*	-	-
Comp.Ex.4	C2	PMDA/CBDA/BDA/DMPP/PPCC = 10/20/20/46.5/3.5	0.7*	-	-

* Poor alignment occurred.

5 The results of Examples 1 to 5 show that liquid crystal alignment materials simultaneously having adequate pre-tilt angles and preferred initial values and aged/initial ratios of current consumption were obtained by mixing the polyamic acid A1 that excels in terms of initial values and aged/initial ratios of current consumption but increases pre-tilt angles of liquid crystals little (see Comparative Example 1) with the polyamic acid B1 that has poorer electrical properties but is able to appreciably increase the pre-tilt angles of liquid crystals (see Comparative Example 2).

15 From the initial values and the aged/initial ratios of current consumption of Examples 1 to 5, it is known that minimum values are observed when the content of the polyamic acid B1 is about 50% or less, and that the initial values are almost the same as those of polyamic acid A1. Regarding pre-tilt



angles, on the other hand, the values obtained in the vicinity of the 5% content of polyamic acid B1 are almost the same as those obtained for 100% content of polyamic acid B1.

These results are collectively shown in Fig. 1. From Fig. 1 It is understood that the pre-tilt angle, the initial value of current consumption, and the aged/initial ratio are well balanced when the content of polyamic acid B1 falls within the range of 5% to 50%. That is, when the electrical properties and the pre-tilt angles of this composition system are considered, it is known that the optimal composition is one in which the content of polyamic acid B1 is about 10 to 20%.

Comparative Examples 3 and 4 were prepared for examining copolyamic acid s synthesized by use of the same materials instead of the mixed systems of the Examples. While Examples 1 to 5 of the mixed systems exhibit high pre-tilt angles of 6.8 to 7.5° , Comparative Examples 3 and 4 of copolyamic acid systems exhibit lower pre-tilt angles, and poor alignment as well, indicating that satisfactory results could not be obtained from copolyamic acid systems.

(Examples 6-7 and Comparative Examples 5-8)

For these Examples and Comparative Examples, there are shown the results of examination on pre-tilt angles and electrical properties when the polyamic acid B is fixed to the polyamic acid B1 and various polyamic acids A are combined with the polyamic acid B1.

1) Preparation of varnish

Polyamic acids A2 to A7 and the polyamic acid B1 were mixed in the ratio of the polyamic acids A to the polyamic acid B1 of 90%:10% by weight, and each mixture was diluted with a mixed
5 solvent of NMP and BC (1:1) so that the total polymer content became 3% to form varnish for application.

2) Preparation of cells for measuring pre-tilt angles and the measurement of pre-tilt angles

Cells for measuring pre-tilt angles were prepared and
10 pre-tilt angles were measured in the same manner as in Example 1.

3) Preparation of cells for evaluating electrical properties and the evaluation of current consumption

Cells for evaluating electrical properties were prepared
15 and their initial values of current consumption and aged/initial ratios were measured in the same manner as in Example 1.

Table 3 shows the results of Examples 6, 7 and Comparative Examples 5-8.



Table 3 Pre-tilt angles and electrical properties of various polyamic acids

	Polyamic acid	Mole ratio of materials for polymer component (mole %)	Pre-tilt angle (degrees)	Current consumption	
				Initial (μ A)	Aged/Initial ratio
Example 6	B1/A2=10/90	A2: CBDA/BDA/DPPP = 25/25/50	8.5	1.62	1.23
Example 7	B1/A3=10/90	A3: CBDA/BDA/DPPS = 25/25/50			
Comp.Ex. 5	B1/A4=10/90	A4: PMDA/DPMPP = 50/50	8.3	1.65	1.26
Comp.Ex. 6	B1/A5=10/90	A5: PMDA/CBDA/DPMPP = 25/25/50	7.0	2.23	2.45
Comp.Ex. 7	B1/A6=10/90	A6: PMDA/BDA/DPMPP = 25/25/50	7.4	2.05	2.30
Comp.Ex. 8	B1/A7=10/90	A7: CBDA/BDA/DPEr = 25/25/50	7.3	2.08	2.25
			5.6	2.56	2.88

Note: The component B is all B1. (B1: PMDA/DPMPP/PPGCC =50/32.5/17.5)

5

The results of Example 2 and Comparative Examples 5-7 show that CBDA or BDA is more preferable than PMDA as the tetracarboxylic dianhydride component used in the polyamic acid A.

10

Also, the results of Examples 2, 6, 7 and Comparative Example 8 show that the four-ring diamine compounds such as DPMPP, DPPP, and DPPS are more preferable in terms of electrical properties than are the two-ring diamine compounds such as DPEr.

15

(Examples 8-12 and Comparative Examples 9-13)

For these Examples and Comparative Examples, there are shown the results of examinations of pre-tilt angles and electrical properties when the polyamic acid A is fixed to the polyamic acid A1 and various polyamic acids B are combined with the polyamic acid A1.

20

1) Preparation of varnish

Polyamic acids A1 and the polyamic acid B2 to B11 were mixed in the ratio of the polyamic acid A1 to various polyamic acids B of 90%:10% by weight, and each mixture was diluted with a mixed solvent of NMP and BC (1:1) so that the total polymer content became 3% to form varnish for application.

2) Preparation of cells for measuring pre-tilt angles and the measurement of pre-tilt angles

Cells for measuring pre-tilt angles were prepared and pre-tilt angles were measured in the same manner as in Example 1.

3) Preparation of cells for evaluating electrical properties and the evaluation of current consumption

Cells for evaluating electrical properties were prepared and their initial values of current consumption and aged/initial ratios were measured in the same manner as in Example 1.

Table 4 shows the results of Examples 8-12 and Comparative Examples 9-13.

Table 4 Pre-tilt angles and electrical properties of various polyamic acids

	Polyamic acid	Mole ratio of materials for polymer component (mole %)	Pre-tilt angle (degrees)	Current consumption	
				Initial (μ A)	Aged/Initial ratio
Example 8	B2/A1=10/90	B2: PMDA/PPPPCC = 50/50	10.2	1.60	1.23
Example 9	B3/A1=10/90	B3: PMDA/DPPP/PPPPCC = 50/32.5/17.5	6.9	1.64	1.18
Example 10	B4/A1=10/90	B4: PMDA/DPPS/PPPPCC = 50/32.5/17.5	6.4	1.63	1.25
Example 11	B5/A1=10/90	B5: PMDA/DPM/PPPPCC = 50/32.5/17.5	4.5	1.69	1.33
Example 12	B6/A1=10/90	B6: PMDA/CBDA/DPMPP/PPPPCC = 25/25/32.5/17.5	6.0	1.62	1.22
Comp. Ex. 9	B7/A1=10/90	B7: PMDA/DPEr/PPPPCC = 50/32.5/17.5	5.2	2.03	2.23
Comp. Ex. 10	B8/A1=10/90	B8: PMDA/FM3307/PPPPCC = 50/25/25	1.3*	-	-
Comp. Ex. 11	B9/A1=10/90	B9: CBDA/DPMPP/PPPPCC = 50/32.5/17.5	3.2*	-	-
Comp. Ex. 12	B10/A1=10/90	B10: BDA/DPMPP/PPPPCC = 50/32.5/17.5	3.1*	-	-
Comp. Ex. 13	B11/A1=10/90	B11: PMDA/CBDA/DPMPP/PPPPCC = 20/30/32.5/17.5	2.5*	1.90	1.86

Note: The component A is all A1. (A1: CBDA/BDA/DPMPP = 25/25/50)

* Poor alignment occurred.

5

The results of Example 2 and 8-11 show that the use, as the diamine components used in the polyamic acid B, of amine components having on their side chains groups that increase the pre-tilt angle of liquid crystals, alone, or the combination of such amine components with DPMPP, DPPP, DPPS, or DPM, is especially preferred. Comparative Examples 9 and 10 show that, since a diamine of a two-ring structure having an ether group (DDEr) is not preferred in terms of electrical properties, and since a siloxane-based diamine (FM3307) provides a small pre-tilt angle and poor alignment of liquid crystal molecules, these are not suited for aligning films for liquid crystal display elements.

10
15

The results of Example 12 and Comparative Examples 11 to



13 show that tetracarboxylic dianhydride components used in the polyamic acid B containing 50 mole % or more aromatic components such as PMDA are preferred from the viewpoint of the alignment of liquid crystal molecules.

5

Industrial Applicability

From a liquid crystal aligning film produced from the polyamic acid composition of the present invention, there can be obtained an excellent liquid crystal display element which
10 has an adequate pre-tilt angle, a small residual voltage, and an excellent value and aged/initial ratio of current consumption, as well as a low process dependence.

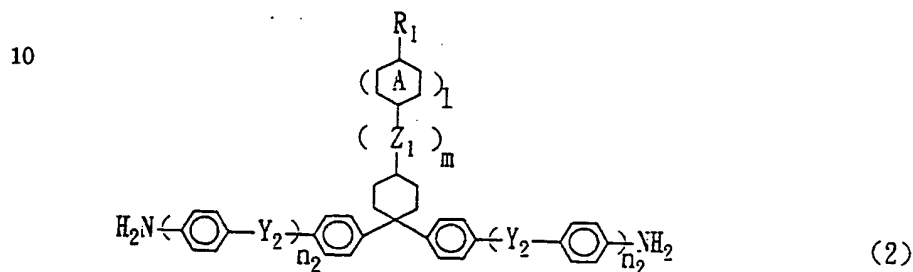


CLAIMS

1. A polyamic acid composition comprising a polyamic acid A providing a polyimide having excellent electrical properties, and a polyamic acid B containing a diamine having side chains, wherein said polyamic acid A is a polyamic acid comprising an acid component containing at least one tetracarboxylic dianhydride selected from a group consisting of aliphatic tetracarboxylic dianhydrides and alicyclic tetracarboxylic dianhydrides, and an amine component based on at least one of aromatic diamine represented by the following formula (1);
- $$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{Y}_1-\text{C}_6\text{H}_4-\text{X}_1-\text{C}_6\text{H}_4-\text{Y}_1-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2 \quad (1)$$
- wherein, each Y_1 is independently an oxygen atom or a CH_2 group; each X_1 is independently a single bond, an oxygen atom, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $\text{C}(\text{CF}_3)_2$, S, SO_2 , or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and said polyamic acid B is a polyamic acid comprising an acid component containing 50 mole % or more of at least one aromatic tetracarboxylic dianhydride, and an amine component containing at least one diamine having a group enabling the pre-tilt angle of a liquid crystal to be increased on the side chain thereof, the ratio A/B of the polyamic acid A to the polyamic acid B being 50/50 to 95/5 (by weight).

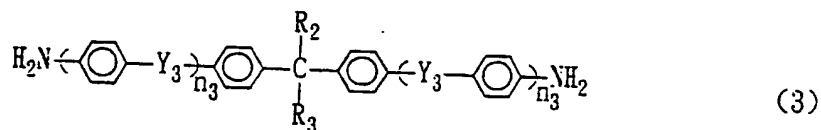


2. A polyamic acid composition according to Claim 1, wherein the diamine having in the side chain thereof a group enabling the pre-tilt angle of a liquid crystal to be increased in the polyamic acid B is at least one of diamines represented by general formulas (2) and (3), or said diamine and at least one of diamines represented by the above formula (1) and general formula (4).



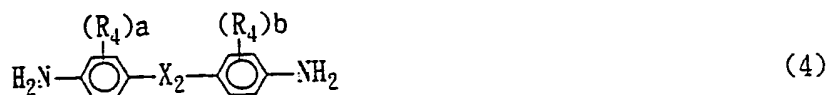
15 wherein, R_1 is hydrogen atom or an alkyl group having 1 to 12 carbon atoms; Z_1 is CH_2 group; m is an integer from 0 to 2; ring A is benzene ring or cyclohexane ring; l is 0 or 1; each Y_2 is independently oxygen atom or CH_2 group; and each n_2 is

20 independently 0 or 1.





wherein, each Y_1 is independently oxygen atom or CH_2 group; each of R_2 and R_3 is independently hydrogen atom, an alkyl group or a perfluoroalkyl group having 1 to 12 carbon atoms, at least one of R_2 and R_3 being an alkyl group having 3 or more carbon
 5 atoms; and each n_3 is independently 0 or 1.



wherein, X_2 is a divalent aliphatic group; each R_4 is
 10 independently hydrogen atom or CH_3 ; and each of a and b is 1 to 2.

3. A polyamic acid composition according to Claim 2, wherein the polyamic acid A contains an acid component containing
 15 alicyclic tetracarboxylic dianhydride and aliphatic tetracarboxylic dianhydride; and the polyamic acid A contains a diamine component of the general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0
 20 to 2.

4. A polyamic acid composition according to Claim 2, wherein the ratio of the aliphatic tetracarboxylic dianhydride to the alicyclic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A
 25 is 90/10 to 30/70 (mole ratio), the polyamic acid A contains

a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2.

5

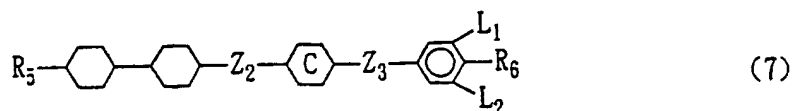
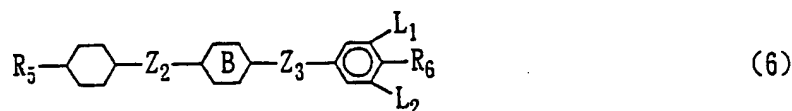
5. A polyamic acid composition according to Claim 2, wherein the aliphatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is butane tetracarboxylic dianhydride, the alicyclic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is
10 cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic tetracarboxylic
15 dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.

6. A polyamic acid composition according to Claim 2, wherein the polyamic acid A comprises an acid component containing cyclobutane tetracarboxylic dianhydride and butane
20 tetracarboxylic dianhydride, and the polyamic acid A contains a diamine component of general formula (1), wherein Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic tetracarboxylic
25 dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.



7. A polyamic acid composition according to Claim 2, wherein the aliphatic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is butane tetracarboxylic dianhydride, the alicyclic tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid A is
- 5 cyclobutane tetracarboxylic dianhydride, the ratio of the former to the latter is 90/10 to 30/70 (mole ratio), and in general formula (1), Y_1 is CH_2 ; each X_1 is independently a single bond, $C(CH_3)_2$, $C(CF_3)_2$, or a linear alkyl group having 1 to 6 carbon atoms; and n_1 is an integer from 0 to 2, and the aromatic
- 10 tetracarboxylic dianhydride in the polyamic acid B is pyromellitic dianhydride.
8. An aligning film for liquid crystal display elements containing a polyimide obtained from a composition according
- 15 to any of Claims 1 through 7.
9. A liquid crystal display element using an aligning film for liquid crystal display elements according to Claim 8.
- 20 10. A liquid crystal display element according to Claim 9, wherein the liquid crystal composition contains at least one compound selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7).

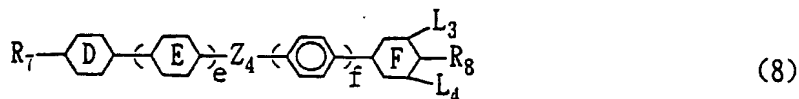




wherein, R_5 is an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in
 10 which optional, nonadjacent methylene groups may be
 substituted by $-O-$ or $-\text{CH}=\text{CH}-$, and in which optional hydrogen
 atoms may be substituted by fluorine atoms; R_6 is fluorine atom,
 chlorine atom, $-\text{OCF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{H}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CFH}_2$, $-\text{OCF}_2\text{CF}_2\text{H}$ or
 $-\text{OCF}_2\text{CFHCF}_3$; each of L_1 and L_2 is independently a hydrogen atom
 15 or fluorine atom; each of Z_2 and Z_3 is independently 1,2-
 ethylene, 1,4-butylene, $-\text{COO}-$, $-\text{CF}_2\text{O}-$, $-\text{OCF}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, or a
 single bond; ring B is trans-1,4-cyclohexylene, 1,3-
 dioxane-2,5-diyl, or 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may
 be substituted by fluorine atoms; and ring C is trans-1,4-
 20 cyclohexylene, or 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may
 be substituted by fluorine atoms; and wherein atoms
 constituting such compounds may be substituted by isomers
 thereof.

25 11. A liquid crystal display element according to Claim 9,

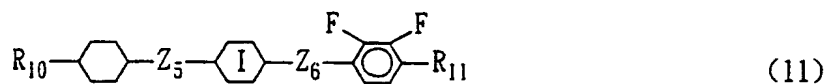
wherein the liquid crystal composition contains at least one compound selected from those represented by general formulas (8) and (9).



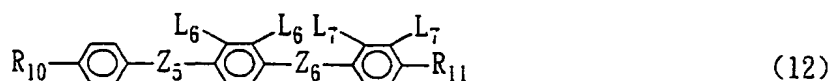
wherein, each of R₇ and R₈ is independently an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; R₉ is -CN group or -C≡C-CN; ring D is *trans*-1,4-cyclohexylene, 1,4-phenylene, 1,3-dioxane-2,5-diyl, or pyrimidine-2,5-diyl; ring E is *trans*-1,4-cyclohexylene, 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms, or pyrimidine-2,5-diyl; ring F is *trans*-1,4-cyclohexylene or 1,4-phenylene; Z₄ is 1,2-ethylene, -COO-, or a single bond; each of L₃, L₄, and L₅ is independently hydrogen atom or fluorine atom; and each of e, f, and g is independently 0 or 1.

12. A liquid crystal display element according to Claim 9, wherein the liquid crystal composition contains at least one compound selected from those represented by general formulas (10), (11), and (12).





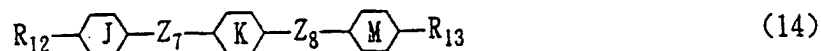
5



wherein, each of R_{10} and R_{11} is independently an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; each of rings G and I is independently *trans*-1,4-cyclohexylene or 1,4-phenylene; each of L_6 and L_7 is independently hydrogen atom or fluorine atom, but L_6 and L_7 are not hydrogen atoms simultaneously; and each of Z_5 and Z_6 is independently 1,2-ethylene, -COO-, or a single bond.

13. A liquid crystal display element according to Claim 9, wherein the liquid crystal composition contains as the first component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (5), (6), and (7), and contains as the second component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (13), (14), and (15).





5



wherein, each of R_{12} and R_{13} is independently an alkyl group having 1 to 10 carbon atoms in which optional, nonadjacent methylene groups may be substituted by -O- or -CH=CH-, and in which optional hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; each of rings J, K, and M is independently *trans*-1,4-cyclohexylene, pyrimidine-2,5-diyl, or 1,4-phenylene in which hydrogen atoms may be substituted by fluorine atoms; and each of Z_7 and Z_8 is independently 1,2-ethylene, -C≡C-, -COO-, -CH=CH-, or a single bond.

14. A liquid crystal display element according to Claim 9, wherein the liquid crystal composition contains as the first component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (8), and (9), and contains as the second component thereof at least one compound selected from those represented by general formulas (13), (14), and (15).

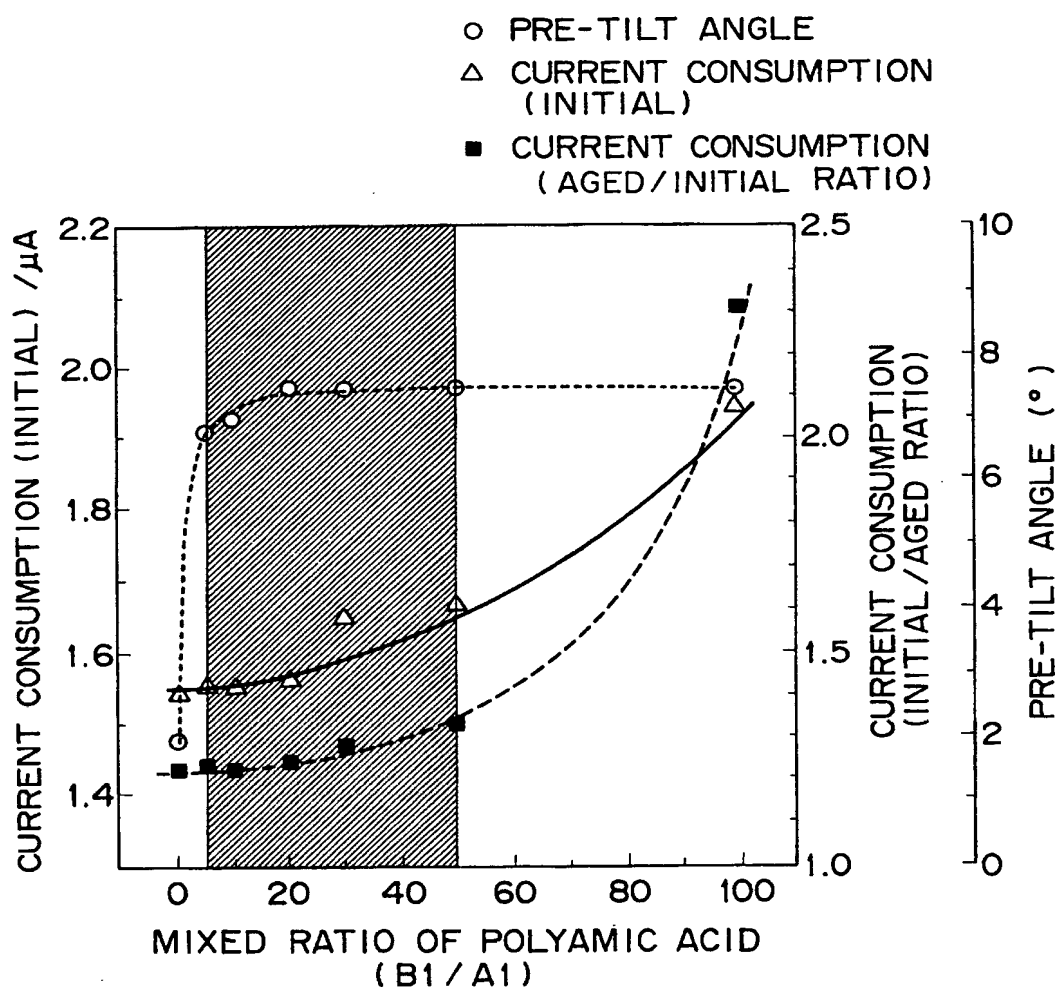


15. A liquid crystal display element according to Claim 9,
wherein the liquid crystal composition contains as the first
component thereof at least one compound selected from those
represented by general formulas (10), (11), and (12), and
5 contains as the second component thereof at least one compound
selected from those represented by general formulas (13), (14),
and (15).

16. A liquid crystal display element according to Claim 9,
10 wherein the liquid crystal composition contains as the first
component thereof at least one compound selected from those
represented by general formulas (5), (6), and (7); contains
as the second component thereof at least one compound selected
from those represented by general formulas (8) and (9); and
15 contains as the third component thereof at least one compound
selected from those represented by general formulas (13), (14),
and (15).

17. A liquid crystal display element according to any of Claims
20 10 through 16, wherein the liquid crystal composition further
contains one or more optically active compounds.

FIG. 1





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/JP 98/05547

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 G02F1/1337 C08L79/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C08G G02F C08L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 14742 A (CHISSO ET AL.) 24 April 1997 see claims; examples	1-17
A	US 5 693 379 A (S. SUGIMORI ET AL.) 2 December 1997 see claims	1-9
A	EP 0 718 666 A (JAPAN SYNTHETIC RUBBER) 26 June 1996 see claims; examples	1-9
A	EP 0 725 302 A (JAPAN SYNTHETIC RUBBER) 7 August 1996 see claims; examples	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 March 1999

Date of mailing of the international search report

12/03/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Boeker, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 98/05547

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9714742	A	24-04-1997	JP 9110981 A	28-04-1997
			AU 7333796 A	07-05-1997
			CN 1173886 A	18-02-1998
			EP 0799270 A	08-10-1997
			US 5807961 A	15-09-1998
US 5693379	A	02-12-1997	JP 8120078 A	14-05-1996
			JP 8143667 A	04-06-1996
			US 5830976 A	03-11-1998
EP 0718666	A	26-06-1996	JP 8169954 A	02-07-1996
			US 5698135 A	16-12-1996
EP 0725302	A	07-08-1996	JP 8208835 A	13-08-1996
			US 5773559 A	30-06-1998

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年3月8日 (08.03.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/16315 A1

(51) 国際特許分類: C12N 15/12, C07K 14/47, C12Q 1/68, C07K 19/00, 16/18, C12N 5/10, A61K 38/17, 45/00, A61P 25/28, G01N 33/53, A01K 67/027

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05545

(22) 国際出願日: 2000年8月18日 (18.08.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/240642 1999年8月27日 (27.08.1999) JP
特願平11/368991 1999年12月27日 (27.12.1999) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町四丁目1番8号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 芳賀達也 (HAGA, Tatsuya) [JP/JP]; 〒249-0004 神奈川県逗子市沼間二丁目3番1号 411号室 Kanagawa (JP). 奥田隆志 (OKUDA, Takashi) [JP/JP]; 〒202-0002 東京都保谷市ひばりヶ丘北四丁目1番6号 リズひばりヶ丘101号室 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 廣田雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒107-0052 東京都港区赤坂二丁目8番11号 第11赤坂葵ビル502 Tokyo (JP).

(81) 指定国(国内): CA, US.

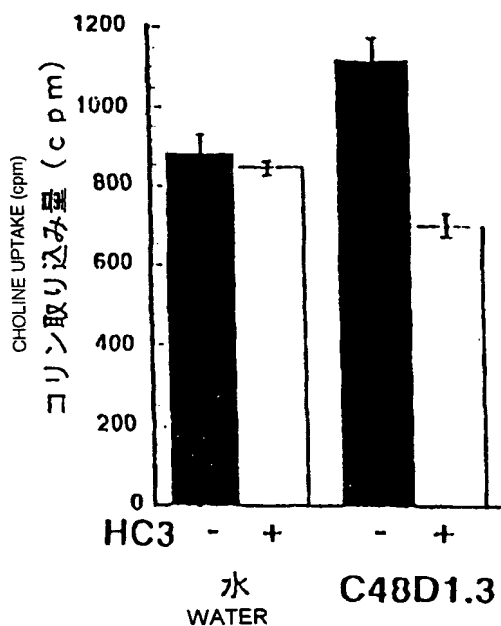
(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (CH, DE, ES, FR, GB, IT, SE).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: sLGH AFFINITY CHOLINE TRANSPORTER

(54) 発明の名称: 高親和性コリントランスポーター



(57) Abstract: A protein having a high affinity choline transporter activity which is important physiologically; a gene encoding the protein; and a method of screening a substance promoting the high affinity choline transporter activity with the use of the same, etc. The high affinity choline uptake activity of Na⁺-dependent transporter cDNA deduced from the genomic sequence of a nematode (*C. elegans*) is examined in a *Xenopus laevis* oocyte expression system to thereby identify the cDNA (cho-1) of nematode high affinity choline transporter. By using the homology of a base sequence with this cDNA as an indication, the cDNA (CHT1) of rat high affinity choline transporter is cloned from rat spinal cord. Similarly, the cDNA of human high affinity choline transporter is cloned from human genome.

WO 01/16315 A1



(57) 要約:

生理的に重要である高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質、それをコードする遺伝子及びそれらを利用した高親和性コリントランスポーター活性促進物質のスクリーニング方法等を提供するものである。線虫 (*C. elegans*) のゲノム配列から予測される Na^+ 依存性トランスポーター cDNA についてアフリカツメガエルの卵母細胞発現系で高親和性コリン取り込み活性を調べることにより、線虫高親和性コリントランスポーターの cDNA (cho-1) を同定し、この cDNA との塩基配列の相同性を指標にラット脊髄からラット高親和性コリントランスポーターの cDNA (CHT1) をクローニングする。同様に、ヒトゲノムからヒト高親和性コリントランスポーターの cDNA をクローニングする。

明 細 書

高親和性コリントランスポーター

5 技術分野

本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質、それをコードする遺伝子及びそれらの利用に関する。

背景技術

- 10 全身の臓器に分布し、内分泌系と並んでエネルギー代謝、循環、呼吸及び生殖など生体にとって最も基本的な機能を調節する神経系である自律神経は、アドレナリン作動性とコリン作動性に分類される。交感神経の節後繊維以外のすべての自律神経繊維、運動神経繊維、交感神経のうち汗腺・血管拡張繊維はコリン作動性神経であり、運動・自律神経機能
- 15 に重要である。脳にも存在するコリン作動性神経は、脳の認知機能に重要であり、アルツハイマー病では変性することが知られている。また、コリン作動性神経では、コリン生合成能を欠いているため、アセチルコリン分解産物のコリンはシナプス前部に存在する高親和性コリントランスポーターによって細胞内に取り込まれ、アセチルコリン合成に再利用
- 20 される。この高親和性コリンの取り込みはアセチルコリン合成の律速段階であり、シナプス伝達の効率を調節すると考えられている (J. Neurochem. 18, 781-798, 1971、Science 178, 626-628, 1972、Biochem. Biophys. Acta 291, 564-575, 1973、Mol. Pharmacol. 9, 630-639, 1973、J. Pharmacol. Exp. Ther. 192, 86-94, 1975、J. Neurochem. 30, 15-21,
- 25 1978、J. Neurochem. 44, 11-24, 1985、J. Neurochem. 60, 1191-1201, 1993、J. Neurochem. 20, 581-593, 1973、Eur. J. Pharmacol. 102,

369-370, 1984)。従来、主要な神経伝達物質トランスポーターのほとんどの cDNA は単離されているが、生理的に重要である高親和性コリントランスポーターの cDNA は同定されていない。

5 発明の開示

コリン作動性神経に局在し、アセチルコリンの前駆体であるコリンを細胞内に取り込む作用をするタンパク質の存在がこれまでに予想されており、このタンパク質である高親和性コリントランスポーターの分子的性質は不明であった。本発明の課題は、生理的に重要である高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質、それをコードする遺伝子及びそれらを利用した高親和性コリントランスポーター活性促進物質のスクリーニング方法等を提供することにある。

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究し、ゲノム・プロジェクトの情報 (Science 282, 2012-2018, 1998) を利用して、線虫 (*C. elegans*) のゲノム配列から予測される Na^+ 依存性トランスポーター cDNA を 1 つひとつクローニングし、そのそれぞれについてアフリカツメガエルの卵母細胞発現系で高親和性コリン取り込み活性を調べることにより、線虫高親和性コリントランスポーターの cDNA (*cho-1*) を同定し、この cDNA との塩基配列の相同性を指標にラット脊髄から相同分子 (CHT1) をクローニングした。この CHT1 は神経伝達物質トランスポーター (J. Neurochem. 71, 1785-1803, 1998) との相同性をもたないが、 Na^+ 依存性グルコーストランスポーターファミリーに属する分子 (Nature 330, 379-381, 1987) に対して 20-25% の相同性を有していた。

ノザン解析の結果、脊髄、前脳基底部、線条体、脳幹に局限して CHT1 の転写産物が確認され、CHT1 はコリン作動性神経で発現してい

ると考えられたので、C H T 1 をアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させると、 Na^+ 依存的で、ヘミコリニウム-3 で完全に阻害されるコリン取り込み活性が観察された。これらの結果から、C H T 1 が高親和性コリントランスポーター活性を有することを見い出した。また、本発明者らは、ヒト及びマウス由来のコリントランスポーター c D N A をクローニングし、その塩基配列を決定し、その発現産物が高親和性コリン取り込み活性を有することを確認した。本発明は以上のようにして完成するに至ったものである。

すなわち本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子（請求項 1）や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項 2）や、配列番号 1 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含む D N A（請求項 3）や、請求項 3 記載の遺伝子を構成する D N A とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする線虫由来の D N A（請求項 4）や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項 5）や、配列番号 3 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含む D N A（請求項 6）や、請求項 6 記載の遺伝子を構成する D N A とストリンジェントな条件下で

- ハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするラット由来のDNA（請求項7）や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号6に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号6に示されるアミノ酸配列
- 5 において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項8）や、配列番号5に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA（請求項9）や、請求項9記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェント
- 10 な条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするヒト由来のDNA（請求項10）や、以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子(a)配列番号8に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質(b)配列番号8に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは
- 15 付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項11）や、配列番号7に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA（請求項12）や、請求項12記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリント
- 20 ランスポーター活性を有するタンパク質をコードするマウス由来のDNA（請求項13）に関する。

- また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項14）や、配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項15）や、配列番号2に示されるアミノ酸配列におい
- 25 て、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ線虫高親和性コリントランスポーター活性を有す

るタンパク質（請求項 16）や、配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項 17）や、配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつラット高親和性コリントランスポーター

- 5 活性を有するタンパク質（請求項 18）や、配列番号 6 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項 19）や、配列番号 6 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項 20）や、配列番号 8 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質（請求項 21）や、配列番号 8 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質（請求項 22）に関する。

- また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質と、マーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質（請求項 23）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 15 又は 16 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 23 記載の融合タンパク質（請求項 24）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 17 又は 18 記載のラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 23 記載の融合タンパク質（請求項 25）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 19 又は 20 記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 23 記載の融合タンパク質（請求項 26）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、

請求項 2 1 又は 2 2 記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 3 記載の融合タンパク質（請求項 2 7）に関する。

5 また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体（請求項 2 8）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 5 又は 1 6 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体（請求項 2 9）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 7 又は 1 8 記載の
10 ラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体（請求項 3 0）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 9 又は 2 0 記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体（請求項 3 1）や、高親和
15 性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 2 1 又は 2 2 記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体（請求項 3 2）や、抗体がモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 2 8 ～ 3 2 のいずれか記載の抗体（請求項 3 3）に関する。

20 また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞（請求項 3 4）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 5 又は 1 6 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞（請求
25 項 3 5）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 7 又は 1 8 記載のラット高親和性コリントランスポーター

活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞（請求項 3 6）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 9 又は 2 0 記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞（請求項 3 7）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 2 1 又は 2 2 記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞（請求項 3 8）に関する。

また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現することを特徴とする非ヒト動物（請求項 3 9）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 5 又は 1 6 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 9 記載の非ヒト動物（請求項 4 0）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 7 又は 1 8 記載のラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 9 記載の非ヒト動物（請求項 4 1）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 9 又は 2 0 記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 9 記載の非ヒト動物（請求項 4 2）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 2 1 又は 2 2 記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 9 記載の非ヒト動物（請求項 4 3）や、非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求項 3 9 ～ 4 3 のいずれか記載の非ヒト動物（請求項 4 4）に関する。

また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した細胞に、請求項 8 ～ 10 のいずれか記載の遺伝子又は DNA を導入することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法（請求項 4 5）や、高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞が、請求項 8 ～ 10 のいずれか記載の遺伝子又は DNA が染色体にインテグレートされ、ステイブルに高親和性コリントランスポーター活性を示す細胞であることを特徴とする請求項 4 5 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法（請求項 4 6）や、請求項 4 5 又は 4 6 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法により得られることを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞（請求項 4 7）に関する。

また本発明は、被検物質の存在下、請求項 1 4 ～ 2 2 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の高親和性コリントランスポーター活性を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法（請求項 4 8）や、被検物質の存在下、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現している細胞膜又は細胞をインビトロで培養し、該細胞膜又は該細胞における高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 4 9）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現している細胞膜又は細胞が、請求項 3 4 ～ 3 8 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞又は

- 請求項 4 7 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞であることを特徴とする請求項 4 9 記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 0）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、組換えタンパク質であることを特徴とする請求項 4 8 ～ 5 0 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 1）や、被検物質の存在下、請求項 3 9 ～ 4 4 のいずれか記載の
- 5 非ヒト動物から得られた細胞をインビトロで培養し、該細胞における高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 2）や、被
- 10 検物質を非ヒト動物に投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 3）や、高親和性コリントランスポーター活性を有する
- 15 タンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現した非ヒト動物に被検物質を投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニ
- 20 グ方法（請求項 5 4）や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現し
- 25

- た非ヒト動物に被検物質を投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を野生型非ヒト動物の場合と比較・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 5）や、非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求項 5 2～5 5 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法（請求項 5 6）に関する。
- 10 また本発明は、請求項 4 8～5 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質（請求項 5 7）や、請求項 4 8～5 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を抑制する物質（請求項 5 8）や、高親和性コリントランスポーターの活性増加又は発現増強を必要としている患者を治療するのに用いられる医薬組成物であって、有効成分として請求項 1 4～2 2 のいずれか記載のタンパク質及び／又は請求項 5 7 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質を含んでなる医薬組成物（請求項 5 9）や、高親和性コリントランスポーターの活性又は発現の抑制を必要としている患者を治療するのに用いられる医薬組成物であって、有効成分として請求項 1 4～2 2 のいずれか記載のタンパク質及び／又は請求項 5 8 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を抑制する物質を含んでなる医薬組成物（請求項 6 0）に関する。
- 25

また本発明は、検体中の高親和性コリントランスポーターをコードす

るDNA配列を、請求項19又は20記載のタンパク質をコードするDNA配列と比較することを特徴とする高親和性コリントランスポーターの発現又は活性と関連する疾病の診断方法（請求項61）や、請求項19又は20記載のタンパク質をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部からなるアルツハイマー症の診断用プローブ（請求項62）や、請求項62記載の診断用プローブ及び／又は請求項28～33のいずれか記載の抗体を含有することを特徴とするアルツハイマー症の診断薬（請求項63）に関する。

10 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の線虫cho-1（C48D1.3 cRNA）または水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞の $[^3\text{H}]$ コリンの取り込み結果を示す図である。

第2図は、本発明の線虫cho-1（C48D1.3 cRNA）または水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞の Na^+ の依存性によるコリン取り込みに対する効果の結果を示す図である。

第3図は、本発明の線虫cho-1（C48D1.3 cRNA）または水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞のHC3によるコリン取り込みの阻害の結果を示す図である。

第4図は、本発明のラットCHT1及び線虫CHO-1のそれぞれのアミノ酸配列を示す図である。

第5図は、線虫の神経系で本発明のcho-1::gfpを発現している神経細胞の分布を示す図である。

第6図は、 Na^+ 依存性グルコーストランスポーターファミリーの系統樹を示す図である。

第7図は、本発明のラットCHT1の予想されるトポロジーを示す図

である。

第 8 図は、本発明のラット組織での C H T 1 m R N A 転写産物のノザン解析の結果を示す図である。

5 第 9 図は、本発明のラット脳における C H T 1 転写産物の in situ ハイブリダイゼーション解析の結果を示す図である。

第 10 図は、本発明の脊髄における C H T 1 転写産物の in situ ハイブリダイゼーション解析の結果を示す図である。

第 11 図は、本発明の C H T 1 c R N A または水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞の $[^3\text{H}]$ コリンの取り込みの結果を示す図である。

10 第 12 図は、本発明の C H T 1 のコリン濃度によるコリン取り込みに対する効果を示す図である。

第 13 図は、本発明の C H T 1 の H C 3 によるコリン取り込みの阻害の結果を示す図である。

15 第 14 図は、本発明の C H T 1 の Na^+ 及び Cl^- 依存性によるコリン取り込みの結果を示す図である。

第 15 図は、本発明の C H T 1 c D N A あるいはベクター p c D N A 3. 1 をそれぞれ導入した C O S 7 細胞から調製した膜への $[^3\text{H}]$ H C 3 結合結果を示す図である。

20 第 16 図は、本発明の C H T 1 c D N A あるいはベクター p c D N A 3. 1 をそれぞれ導入した C O S 7 細胞から調製した膜への特異的 $[^3\text{H}]$ H C 3 結合の飽和解析の結果を示す図である。

第 17 図は、本発明の H C 3、コリン (C h o)、アセチルコリン (A c h) による特異的 $[^3\text{H}]$ H C 3 結合の置換の結果を示す図である。

25 発明を実施するための最良の形態

本発明の配列番号 1 に記載される線虫高親和性コリントランスポータ

一の cDNA は、C. elegans ゲノム・プロジェクトから Na^+ 依存性トランスポーターファミリーのメンバーと予測される完全長の候補 cDNA から調製したそれぞれの cRNA を、アフリカツメガエル卵母細胞に注入し高親和性コリン取り込みを調べることにより得ることができる。

- 5 その際、哺乳類の脳シナプトソームでは高親和性コリン取り込みは $1 \mu\text{M}$ の HC3 で完全に阻害される ($K_i = 10 - 100 \text{ nM}$) のに対し、あらゆる細胞に分布している低親和性コリン取り込みはより高濃度の HC3 でのみ阻害される ($K_i = 50 \mu\text{M}$) ことから、 $1 \mu\text{M}$ のヘミコリンニウム-3 (hemicholinium-3; HC3) に対する感受性を高親和性コリン取り込みの判断基準とすることができる。例えば、以下のようにして線虫 (C. elegans) の候補 cDNA から目的とする遺伝子の同定、発現、局在を確かめることができる。
- 10

- 高親和性コリン取り込みにおいて、C48D1.3 と予測された遺伝子に相当する cDNA は $1 \mu\text{M}$ の HC3 で阻害される有意なコリン取り込みを促すことが分かった。図 1 には、C48D1.3 cRNA または水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞の [^3H] コリンの取り込み結果が示されている。図 1 中、黒と白のカラムは $1 \mu\text{M}$ の HC3 の非存在下、存在下でのコリン取り込みをそれぞれ示し、それぞれのカラムは平均 $\pm \text{SEM}$ ($n = 6 \sim 8$ 卵母細胞) で表示されている。また図 2 には、 Na^+ のコリン取り込みに対する効果を示され、黒カラムは標準溶液中で測定したコリン取り込みを示し ($[\text{Na}^+] = 100 \text{ mM}$)、白カラムは Na^+ 非存在下でのコリン取り込みを示している (Na^+ は Li^+ に置き換えられた)。さらに図 3 には HC3 によるコリン取り込みの阻害が示されている。かかる図 2, 3 から、この取り込みは Na^+ 依存性であり、HC3 の K_i は 50 nM と推定された。この cDNA クローンは ch o - 1 (high-affinity choline transporter-1) と名付けられた。
- 15
- 20
- 25

cDNAとゲノムの塩基配列の比較により、cho-1遺伝子は9つのエクソンからなることが分かった。cho-1のcDNAの塩基配列から予想されるタンパク質は576アミノ酸残基であり(図4参照)、この配列番号2に示されるタンパク質は常法により作製することができる。

5 また、入手できるデータベースを検索したところcho-1のアミノ酸配列はNa⁺依存性グルコーストランスポーターファミリーのメンバーに対して弱いながら有意な相同性を示した。疎水性分析と他のトランスポーターとの比較から12回膜貫通領域をもつことが示唆される(図7参照)。

10 次に、線虫(C.elegans)の神経系でcho-1を発現している細胞を同定するために、cho-1遺伝子上流5.1kbの領域を融合させたグリーン蛍光タンパク質(GFP)遺伝子を線虫に導入し、cho-1::gfpを発現している神経細胞の分布を調べた。cho-1::gfp レポーターDNAを染色体外に保持しているL1幼虫の写真を図5として示す(スケール

15 バー; 50 μm)。図5中、矢頭は神経環を示す。腹部神経索ではGFPはコリン作動性運動神経においてのみ発現しているが、おそらく染色体外のレポーターDNAが欠失したためにいくつかのDA、DB神経細胞はGFPを発現していない。これはcho-1がコリン作動性神経の高親和性コリントランスポーターであることを裏付けている。

20 本発明の配列番号3に記載されるラット高親和性コリントランスポーターのcDNAは、例えば次のようにして調製することができる。脊椎動物のcho-1相同分子に注目し、cho-1から予想されるアミノ酸配列でデータベースを検索し、ヒトのgenomic survey sequence (GSS)で一つの候補(GenBank accession number: AQ316435)を同定

25 した。このヒトのゲノムDNAとcho-1の塩基配列の相同性に基づき、縮重プライマーを用いたPCRでラット脊髄cDNAからcDNA

断片を増幅した。この断片を使ってラット脊髄 cDNA ライブラリーをスクリーニングし陽性の cDNA クローンを得た。最長の読み枠の塩基配列から CHO-1 と 51% の同一性および 70% の類似性を示す 580 アミノ酸残基のタンパク質が予想された (図 4 参照)。このラット cDNA クローンは CHT 1 と名付けられた。図 4 には、ラット CHT 1 と線虫 CHO-1 のそれぞれのアミノ酸配列が、同一残基は黒囲みで、類似残基はグレー囲みで表示されている。予想される膜貫通領域 I-XII は下線が引かれている。この配列番号 4 で示されるタンパク質は常法により作製することができる。

- 10 上記 CHT 1 のアミノ酸配列は Na^+ 依存性グルコーストランスポーターファミリーのメンバーと有意な相同性を有する (20-25%)。遺伝研究所 (三島、日本) のプログラム CLUSTALW を用いて neighbor-joining 法で作製した Na^+ 依存性グルコーストランスポーターファミリーの系統樹を図 6 に示す。図 6 には、ラット CHT 1 に対してそれぞれ
- 15 のタンパク質が含む同一のアミノ酸の割合 % が右側に示されている。一方、酵母のコリントランスポーター (J. Biol. Chem. 265, 15996-16003, 1990)、当初は高親和性コリントランスポーターと報告されていたクレアチントランスポーター (Biochem. Biophys. Res. Commun. 198, 637-645, 1994)、及び他の神経伝達物質トランスポーターとは相同性を
- 20 もたない。

CHT 1 の予想されるトポロジーは線虫 CHO-1 と本質的に同じであると考えられ、ラット CHT 1 の予想されるトポロジーを図 7 に示す。図 7 中、黒の円は同一残基、グレーの円はよく保存された残基、白の円は類似していない残基を示す。枝線は予想される糖鎖付加部位を示す。

- 25 円中の P はタンパク質キナーゼ C によるリン酸化予想部位を示す。

次に、ノザン解析や in situ ハイブリダイゼーションで CHT 1 の m

R N A の発現分布を調べた。ラットのさまざまな組織のノザン解析からおよそ 5 k b の長さの転写産物の発現を確認した。図 8 には、ラット組織での C H T 1 の m R N A 転写産物のノザン解析の結果が示されている。また、R N A の標準 (0 . 2 4 - 9 . 5 k b ; G I B C O B R L) の長さが左

5 に示されている。図 8 からわかるように、前脳基底部や脳幹、脊髄で多く、線条体では少なかった。これらの組織はいずれもコリン作動性神経を含むことが知られている。一方、脳の他の領域や非神経系の組織では転写産物は確認されなかった。

これらの結果と一致して、in situ ハイブリダイゼーションでは線条

10 体、前脳基底部の細胞群、脊髄前角を含む主要なコリン作動性神経の細胞集団で C H T 1 の m R N A の発現が確認された。図 9 及び図 1 0 (スケールバー ; 1 m m) には、ラット脳及び脊髄における C H T 1 転写産物の in situ ハイブリダイゼーション解析に関する、ジゴキシゲニンでラベルされたアンチセンスの c R N A プローブにハイブリダイズされた

15 明視野での切片の顕微鏡写真が図示されている。図 9 から、C H T 1 の m R N A 転写産物は vertical 及び horizontal limbs of the diagonal band (VDB, HDB), medial septal nucleus (MS), caudate and putamen (CPu), olfactory tubercle (Tu) で検出されていることが、図 1 0 から脊髄では前角 (VH) で発現が観察されることがわかる。また、小胞アセチルコリントランスポーターのプロープでハイブリダイズされた隣の切片

20 も本質的に同様な分布を示した。この発現分布はすでに報告されているコリンアセチル基転移酵素や小胞アセチルコリントランスポーターの分布と本質的に同じである。これらの結果は C H T 1 の m R N A がコリン作動性神経に局限して発現していることを示している。

25 次に C H T 1 によるコリン取り込みをアフリカツメガエル卵母細胞で調べた。C H T 1 の c R N A を注入した卵母細胞のコリン取り込みは水

を注入したコントロールよりも2-4倍高かった。図11には、CHT1のcRNAまたは水を注入したアフリカツメガエル卵母細胞の $[^3\text{H}]$ コリンの取り込み結果が示されている。図11中、黒と白のカラムは100mMのNaClあるいはLiClを含む標準溶液でのコリン取り込みをそれぞれ示し、それぞれのカラムは平均 \pm SEM ($n=6\sim 8$ 卵母細胞) で表示されている。またコリン濃度のコリン取り込みに対する効果が図12に示されている。図12においては、水を注入した卵母細胞の取り込みをcRNAのそれから差し引いて、CHT1によるコリン取り込みを算出し、取り込みはミカエリス・メンテンの曲線に近似させている。図12に示されるように、CHT1のコリン取り込みはコリン濃度を増加させると飽和した ($K_m=2.2\pm 0.2\ \mu\text{M}$, $n=3$)。

次に、HC3によるコリン取り込みの阻害の結果を図13に示す。図13から、コントロールの内因性のコリン取り込みの K_m は $10\ \mu\text{M}$ より高く、CHT1のコリン取り込みは $0.1\ \mu\text{M}$ のHC3で完全に阻害される ($K_i=2-3\ \text{nM}$) のに対して、コントロールでは $10\ \mu\text{M}$ のHC3でわずかしき阻害されないことがわかる。図14に示されるように、CHT1のコリン取り込みのイオン依存性を調べると Na^+ だけでなく Cl^- 依存性であることがわかった。黒と白のカラムは水を注入した卵母細胞のコリン取り込み、cRNAを注入した卵母細胞のコリン取り込みをそれぞれ示す (標準溶液中の100mMのNaClは図で示されているそれぞれの100mMの塩で置換)。これらの結果は脳シナプトソームの高親和性コリン取り込みから期待される特性 (コリンに対する高い親和性、HC3に対する高い感受性、 Na^+-Cl^- 依存性) をCHT1がもつことを示している (J. Neurochem. 27, 93-99, 1976)。

また、CHT1のcDNAとベクター (コントロール) をそれぞれ導入したCOS7細胞から調製した膜の $[^3\text{H}]$ HC3結合活性を調べた。

結果を図 1 5 に示す。図 1 5 からわかるように、C H T 1 を発現させた細胞の膜では Na^+ 依存的な $[^3\text{H}] \text{HC} 3$ 結合が観察されたが、コントロールの膜では観察されなかった。次に、特異的 $[^3\text{H}] \text{HC} 3$ 結合の飽和解析を行った。図 1 6 に示されるように、平衡解離定数 (K_d) は

5 $1.6 \pm 0.2 \mu\text{M}$ ($n = 3$) であると推定された。この値は脳シナプトソームで報告されている数値と類似していた (J. Neurochem. 60, 1191-1201, 1993、Life Sci. 35, 2335-2343, 1984、Brain Res. 348, 321-330, 1985)。さらに、HC 3、コリン(Cho)、アセチルコリン(Ach)による特異的 $[^3\text{H}] \text{HC} 3$ 結合の置換について検討した。アセチルコ

10 リンは $1 \mu\text{M}$ フィゾスチグミン存在下で測定した。結果を図 1 7 に示す。図 1 7 から、 $[^3\text{H}] \text{HC} 3$ の特異的結合はアセチルコリンよりも約 10 倍以上低い濃度で置換されることがわかる。これらの結果は C H T 1 が高親和性コリントランスポーターであるだけでなく HC 3 結合部位でもあることを示している。

15 本発明の配列番号 5 に記載されるヒト高親和性コリントランスポーターの cDNA は、例えば次のようにして調製することができる。線虫 (C. elegans) C H O - 1 のアミノ酸配列でデータベース検索を行い、有意な相同性がある特定のヒトゲノム DNA 断片の配列 (human genomic survey sequence の 1 クローンである R - 1 0 7 P 1 2 ; GenBank

20 accession number : AQ316435) を見い出し、かかる DNA 断片の塩基配列を基に P C R の遺伝子特異的プライマーを設計した。ヒト全脳の Marathon-Ready™ cDNA (クローンテック社製) と付属のアダプタープライマーを用いて 5' - R A C E (rapid amplification of cDNA ends) 及び 3' - R A C E を行った。この得られた P C R 産物を P C R

25 用クローニングベクターにクローン化し、挿入 DNA の塩基配列を決定した。また、この DNA 配列から予想されるアミノ酸配列は配列番号 6

で示されている。かかる配列番号 6 で示されるヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質は、配列番号 5 に示される DNA 配列情報に基づいて常法により作製することができる。

5 本発明の配列番号 7 に記載されるマウス高親和性コリントランスポーターの cDNA は、例えば次のようにして調製することができる。線虫 (C. elegans) CHO-1 のアミノ酸配列でデータベース検索を行い、有意な相同性がある特定のヒトゲノム DNA 断片の配列 (human genomic survey sequence の 1 クローンである R-107P12 ; GenBank accession number : AQ316435) を見出し、かかる DNA 断片の塩基配列を基に PCR の遺伝子特異的プライマーを設計した。マウス全脳の Marathon-ReadyTM cDNA (クローンテック社製) と付属のア
10 ダプタープライマーを用いて 5' - RACE (rapid amplification of cDNA ends) 及び 3' - RACE を行った。この得られた PCR 産物を PCR 用クローニングベクターにクローン化し、挿入 DNA の塩基配列を決定した。また、この DNA 配列から予想されるアミノ酸配列は配列
15 番号 8 で示されている。かかる配列番号 8 で示されるマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質は、配列番号 7 に示される DNA 配列情報に基づいて常法により作製することができる。

20 本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質としては、天然由来のタンパク質であっても組換えタンパク質であってもよく、上記具体的に開示した配列番号 2、4、6 及び 8 で示されるものの他に、配列番号 2、4、6 及び 8 で示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタン
25 パク質も包含され、これらは公知の方法で調製することができる。また、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコ

ードする遺伝子又はDNAとしては、上記具体的に開示された配列番号
1、3、5及び7で示されるものの他に、配列番号2、4、6及び8で
示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置
換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントラ
5 ンスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子又はDNAや、
これら遺伝子又はDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズ
し、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコ
ードするDNAも包含され、これらは公知の方法で調製することができる。

- 10 ところで、コリン作動性神経は学習・記憶に非常に重要な役割を果た
している。この神経の障害と痴呆の重篤さは相関する。アセチルコリン
合成の律速段階は高親和性コリン取り込みであり、その活性は神経活動
や種々の刺激で制御されている。さらにアルツハイマー病患者の脳では
高親和性コリン取り込みやHC3結合活性が亢進している（Trends
15 Neurosci. 15, 117-122, 1992、Ann. NY Acad. Sci. 777, 197-204, 1996、
J. Neurochem. 69, 2441-2451, 1997）。上記高親和性コリントランスポ
ーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子又はDNAや、高親
和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質のクローニングは
これらの制御の分子機構を明らかにしたり、アルツハイマー病の新しい
20 療法を開発したりするために重要である。

本発明の融合タンパク質とは、線虫、ラット、ヒト、マウス等の高親
和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に、マーカートン
パク質及び／又はペプチドタグとを結合させたものをいい、マーカート
ンパク質としては、従来知られているマーカートンパク質であればどの
25 ようなものでもよく、例えば、アルカリフォスファターゼ、抗体のFc
領域、HRP、GFPなどを具体的に挙げることができ、また本発明に

おけるペプチドタグとしては、M y c タグ、H i s タグ、F L A G タグ、G S T タグなどの従来知られているペプチドタグを具体的に例示することができる。かかる融合タンパク質は、常法により作製することができ、N i - N T A と H i s タグの親和性を利用した高親和性コリントランス

5 ポーター活性を有するタンパク質の精製や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の検出や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に対する抗体の定量、アルツハイマー症の診断用マーカーなどとして、また当該分野の研究用試薬としても有用である。

10 本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を抗原として用いて常法により作製することが

15 ができるが、その中でもモノクローナル抗体がその特異性の点でより好ましい。かかるモノクローナル抗体等の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体は、例えば、アルツハイマー症の診断や高親和性コリントランスポーターの制御の分子機構を明らかにする上で有用である。

20 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に対する抗体は、慣用のプロトコールを用いて、動物（好ましくはヒト以外）に該高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質若しくはエピトープを含む断片、又は該タンパク質を膜表面に発現した細胞を投与することにより産生され、例えばモノクローナル抗体の調製には、連続細胞

25 系の培養物により産生される抗体をもたらす、ハイブリドーマ法（Nature 256, 495-497, 1975）、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリド

ーマ法 (Immunology Today 4, 72, 1983) 及び E B V-ハイブリドーマ法 (MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, pp.77-96, Alan R.Liss, Inc., 1985) など任意の方法を用いることができる。

5 本発明の上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に対する一本鎖抗体をつくるために、一本鎖抗体の調製法 (米国特許第 4,946,778 号) を適用することができる。また、ヒト化抗体を発現させるために、トランスジェニックマウス又は他の哺乳動物等を利用したり、上記抗体を用いて、その高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現するクローンを単離・同定したり、アフィニティークロマトグラフィーでそのポリペプチドを精製することもできる。高
10 親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に対する抗体は、とりわけ、アルツハイマー症等の診断や治療に使用できる可能性がある。

本発明はまた、上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞に関する。
15 かかる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子の宿主細胞への導入は、Davis ら (BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, 1986) 及び Sambrook ら (MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989) などの多くの標準
20 的な実験室マニュアルに記載される方法、例えば、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション(transvection)、マイクロインジェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクレープローディング (scrape loading)、弾丸導入(ballistic
25 introduction)、感染等により行うことができる。そして、宿主細胞としては、大腸菌、ストレプトミセス、枯草菌、ストレプトコッカス、スタ

フィロコッカス等の細菌原核細胞や、酵母、アスペルギルス等の真菌細胞や、ドロソフィラ S 2、スポドプテラ S f 9 等の昆虫細胞や、L 細胞、CHO 細胞、COS 細胞、HeLa 細胞、C 1 2 7 細胞、BALB/c 3 T 3 細胞（ジヒドロ葉酸レダクターゼやチミジンキナーゼなどを欠損した変異株を含む）、BHK 2 1 細胞、HEK 2 9 3 細胞、Bowes メラノーマ細胞等の動物細胞や、植物細胞等を挙げることができる。

また、発現系としては、上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を宿主細胞内で発現させることができる発現系であればどのようなものでもよく、染色体、エピソード及びウイルスに由来する発現系、例えば、細菌プラスミド由来、酵母プラスミド由来、SV 40 のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来のベクター、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来及びこれらの組合せに由来するベクター、例えば、コスミドやファージミドのようなプラスミドとバクテリオファージの遺伝的要素に由来するものを挙げることができる。この発現系は発現を起こさせるだけでなく発現を調節する制御配列を含んでいてもよい。

上記発現系を含んでなる宿主細胞やかかる細胞の細胞膜、またかかる細胞を培養して得られる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質は、後述するように本発明のスクリーニング方法に用いることができる。例えば、細胞膜を得る方法としては、F. Pietri-Rouxel (Eur. J. Biochem., 247, 1174-1179, 1997) らの方法などを用いることができ、また、かかる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を細胞培養物から回収し精製するには、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフ

イー、アフィニティークロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含めた公知の方法、好ましくは、高速液体クロマトグラフィーが用いられる。特に、アフィニティークロマトグラフィーに用いるカラムとしては、例えば、抗

5 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質抗体を結合させたカラムや、上記高親和性コリントランスポーターに通常のペプチドタグを付加した場合は、このペプチドタグに親和性のある物質を結合したカラムを用いることにより、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を得ることができる。

- 10 本発明において、上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した非ヒト動物とは、染色体上の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子の一部若しくは全部が破壊・欠損・置換等の遺伝子変異により不活性化され、高親和性コリントランスポーター活性を有
- 15 するタンパク質を発現する機能を失なった非ヒト動物をいい、また、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で過剰発現する非ヒト動物とは、野生型非ヒト動物に比べてかかる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を大量に産生する非ヒト動物をいう。そして、本発明における非ヒト
- 20 動物としては、マウス、ラット等の齧歯目動物などの非ヒト動物を具体的に挙げるができるが、これらに限定されるものではない。

ところで、メンデルの法則に従い出生してくるホモ接合体非ヒト動物には、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型とが含まれ、これらホモ接合体非ヒト動物における欠損型又は過剰発現型とその同腹の野生型を同時に用い

25 ることによって個体レベルで正確な比較実験をすることができることか

ら、野生型の非ヒト動物、すなわち高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物と同種の動物、さらには同腹の動物を、例えば下記に記載する本発明のスクリーニングに際して併用することが好ましい。

- 5 かかる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物の作製方法を、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質のノックアウトマウスやトランスジェニックマウスを例にとって以下説明する。
- 10 例えば、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損したマウス、すなわち高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質ノックアウトマウスは、マウス遺伝子ライブラリーからPCR等の方法により得られた遺伝子断片を用いて、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質
- 15 をコードする遺伝子をスクリーニングし、スクリーニングされた高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子をウイルスベクター等を用いてサブクローンし、DNAシーケンシングにより特定する。このクローンの高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子の全部又は一部をpMC1ネオ
- 20 遺伝子カセット等に置換し、3'末端側にジフテリアトキシンAフラグメント(DT-A)遺伝子や単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ(HSV-tk)遺伝子等の遺伝子を導入することによって、ターゲットベクターを作製する。

- この作製されたターゲティングベクターを線状化し、エレクトロポレーション(電気穿孔)法等によってES細胞に導入し、相同的組換えを行い、その相同的組換え体の中から、G418やガンシクロピア(GA
- 25

- NC)等の抗生物質により相同的組換えを起こしたES細胞を選択する。また、この選択されたES細胞が目的とする組換え体かどうかをサザンブロット法等により確認することが好ましい。その確認されたES細胞のクローンをマウスの胚盤胞中にマイクロインジェクションし、かかる
- 5 胚盤胞を仮親のマウスに戻し、キメラマウスを作製する。このキメラマウスを野生型のマウスとインタークロスさせると、ヘテロ接合体マウスを得ることができ、また、このヘテロ接合体マウスをインタークロスさせることによって、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質ノックアウトマウスを作製することができる。また、高
- 10 親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質ノックアウトマウスが生起しているかどうかを確認する方法としては、例えば、上記の方法により得られたマウスからRNAを単離してノーザンブロット法等により調べたり、またこのマウスの発現をウエスタンブロット法等により調べる方法がある。
- 15 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質のトランスジェニックマウスは、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするcDNAにチキン β -アクチン、マウスニューロフィラメント、SV40等のプロモーター、及びラビット β -グロビン、SV40等のポリA又はイントロンを融合させて導入遺伝子を構築し、
- 20 該導入遺伝子をマウス受精卵の前核にマイクロインジェクションし、得られた卵細胞を培養した後、仮親のマウスの輸卵管に移植し、その後被移植動物を飼育し、産まれた仔マウスから前記cDNAを有する仔マウスを選択することによりかかるトランスジェニックマウスを創製することができる。また、cDNAを有する仔マウスの選択は、マウスの尻尾
- 25 等より粗DNAを抽出し、導入した高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子をプローブとするドットハイ

ブリダイゼーション法や、特異的プライマーを用いたPCR法等により行うことができる。

また、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子又はDNAの全部あるいは一部を用いると、アルツハイマー症等の遺伝子治療に有効な細胞を調製することができる。

5 本発明におけるこれら細胞の調製方法としては、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損した細胞に、上記本発明の遺伝子又はDNAの全部あるいは一部をトランスフェクション等により導入し、高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞を得る方法を挙げることができ、特に、かかる高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞としては、上記遺伝子又はDNA等が染色体にインテグレートされ、ステイブルに高親和性コリントランスポーター活性を示す細胞を用いることが好ましい。

10

また、上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子若しくはDNA、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質とマーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に対する抗体、高親和性コリントランスポーター活性を有する

15

20

25

タンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞、高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞等を用いると、アルツハイマー症等のような症状の治療に有用な薬剤、すなわち高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質をスクリーニングすることができる。

本発明におけるスクリーニング方法としては、被検物質の存在下、上

記本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の高親和性コリントランスポーター活性を測定・評価する方法や、被検物質の存在下、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現している細胞膜又は細胞をインビトロで培養し、該細胞

5 における高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価する方法や、前記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物及び／又は野生型非ヒト動物に被検物質を投与し、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有す

10 るタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価する方法等を挙げることができる。上記細胞膜又は細胞としては、前記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現する非ヒト動物又は野生型非ヒト動物などから得られる初代培養した細胞などの細胞や、本発明の高親和性コリントラン

15 スポーター活性を有するタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞や、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞や、これら細胞の細胞膜などを具体的に例示することができる。

上記被検物質と高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質とを用いたスクリーニング方法について、以下に具体的に例を挙げて説明するが、本発明のスクリーニング方法はこれらに限定されるものではない。高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質発現細胞を被検物質の存在下で培養し、一定時間培養後細胞膜表面に発現された高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が減少

20 又は増加したことを、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体を用いて、E L I S A等によ

25

る免疫化学的に検出して、あるいはmRNAの発現が抑制又は促進したことを指標として評価することができる。また、かかるmRNAの検出法は、DNAチップ、ノーザンハイブリダイゼーション等の方法で行なうことができる他、高親和性コリントランスポーターをコードする遺伝子のプロモーターの下流にルシフェラーゼなどのレポーター遺伝子をつ

5 ないだ遺伝子を導入した細胞を用いると、被検物質による高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子の発現抑制又は促進は、前記レポーター遺伝子の活性を指標に検出することが可能である。

- 10 また本発明は、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性又は発現の促進を必要としている患者を治療するのに用いられる医薬組成物や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性又は発現の抑制を必要としている患者を治療するのに用い
- 15 られる医薬組成物であって、有効成分として高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質や、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質又は高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を抑制する物質を含んでなる医薬組成物に関する。高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質は、多くの病理を含めて多数の生物
- 20 学的機能に関与していることから、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を刺激し得る化合物や、その機能を阻害し得る化合物は医薬としての用途が期待できる。

上記高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進又は抑制する物質としては、高親和性コリントラン

25 スポーター活性を有するタンパク質に結合して、あるいは上流のシグナル伝達分子に作用して、単独で高親和性コリントランスポーター活性を

有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質又はその活性若しくは発現を阻害・拮抗する物質であればどのようなものでもよく、例えば、抗体、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質のリガンド、このタンパク質の断片及び断片をコードするオリゴヌクレオチド等を具体的に挙げることができ、またこれらはアルツハイマー疾等
5 のような症状の治療及び予防目的等の医薬として使用することができるが、これらの用途に限定されるものではない。

本発明はまた、検体中の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするDNA配列を、本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするDNA配列と比較することからなる、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性又は発現と関連する疾病の診断方法に関する。高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするDNAの変異型の検出は、遺伝子に変異がある個体をDNAレベルで見い出すことにより行うことができ、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の過少発現、過剰発現又は変異発現により生ずる疾病の診断に有効である。かかる検出に用いられる検体としては、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織等の生検から得ることができるゲノムDNAや、RNA又はcDNAを具体的に挙げることができるがこれらに限定
10 されるものではなく、かかる検体を使用する場合、PCR等により増幅したものをを用いてもよい。そして、塩基配列の欠失や挿入変異は、正常な遺伝子型と比較したときの増幅産物のサイズの変化により検出でき、また点突然変異は増幅DNAを標識高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子とハイブリダイズさせることで同定することができる。このように、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子の変異を検出することで、
25

アルツハイマー疾等のような症状の診断又は判定をすることができる。

- 本発明はまた、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部からなるアルツハイマー症等のような症状の疾患の診断用プローブ、及び
- 5 当該プローブ及び／又は本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体を含有してなるアルツハイマー疾等のような症状の疾患の診断薬に関する。前記診断用プローブとしては、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするDNA (cDNA) 又はRNA (cRNA) のアンチセンス鎖
- 10 の全部又は一部であり、プローブとして成立する程度の長さ (少なくとも20ベース以上) を有するものであれば特に制限されるものではない。かかるプローブ及び／又は本発明の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体をアルツハイマー症等のような症状の診断薬の有効成分とするためには、プローブが分解されないような適当なバッファー類や滅菌水に溶解することが好ましい。また、
- 15 これらの診断薬を用いた、免疫染色法 (Dev. Biol. 170, 207-222, 1995, J. Neurobiol. 29, 1-17, 1996) や、In situ ハイブリダイゼーション法 (J. Neurobiol. 29, 1-17, 1996) や、in situ PCR 法等の方法によりアルツハイマー症等のような症状の疾患を診断することもできる。
- 20 以下上記の各種実験における実験方法等をさらに詳細に説明する。

(高親和性コリントランスポーターcDNAのクローニング)

- 線虫高親和性コリントランスポーターの候補のcDNAは、種々の発生段階の線虫混合物の poly(A)+RNA から逆転写PCR及び3' RACE
- 25 で単離した。プロトコールに従って MarathonTM cDNA Amplification Kit (クローンテック社製) を用いた。PCRの順方向のプライマーはC.

e l e g a n s ゲノム・プロジェクトから入手したDNA塩基配列に基づいて、予測遺伝子の暫定的な翻訳開始点で設計した。増幅されたPCR産物を改変 pSPUTK ベクター（ストラタジーン社製）のNcoI（平滑化）部位とNotI部位にサブクロニングし、挿入DNAの塩基配列を決定した。ラットのCHT1 cDNAは GeneTrapper cDNA Positive Selection System（ギブコバイオラッドラボレトリー：GIBCO BRL）をプロトコール通りに使用してラット脊髄cDNAライブラリーから単離した。用いたプライマーは縮重PCRで得られたcDNA断片の塩基配列から設計した。得られたcDNAクローンを解析した結果陽性だったクローンをpSPUTKベクター及びpcDNA3.1+ベクター（インビトロジェン社製）にサブクロニングした。

（アフリカツメガエル卵母細胞での発現）

cRNAはキャップアナログ存在下でSP6またはT7RNAポリメラーゼを用いてインビトロで合成した。キャップ化RNA 20-30 ngをアフリカツメガエル卵母細胞（ステージV-VI）に微量注入した。取り込み測定は文献（Nature 360, 467-471, 1992）に述べられている方法と本質的に同様に行った。コリン取り込みはRNA注入の2-3日後に0.75 mlの標準液中（0.01-1 μ Mの $[^3\text{H}]$ -コリン、100 mMのNaCl、2 mMのKCl、1 mMのMgCl₂、1 mMのCaCl₂、10 mMのHEPES、5 mMのTris：pH 7.4）の卵母細胞（6-8個）を用いて30-60分間行った。取り込み後の卵母細胞は10%のSDSで可溶化して、液体シンチレーションカウンターで $[^3\text{H}]$ 量を測定した。

（GFC発現コンストラクト）

cho-1::gfp の転写融合コンストラクトは文献 (Gene 212, 127-135, 1998) で述べられている方法と同様に P C R で作製した。核移行シグナル配列 (N L S) の下流にあるグリーン蛍光タンパク質 (G F P) をコードする遺伝子を c h o - 1 翻訳開始点からアミノ酸 3 残基分下流の位置に読み枠が合うように挿入した。N L S と g f p 遺伝子は pPD104.53 ベクターから増幅した。c h o - 1 翻訳開始点から 5 . 1 k b 上流領域を調製するために c h o - 1 の最初のアミノ酸 3 残基分を含むように設計した P C R プライマーを用いた。文献 (EMBO J. 10, 3959-3970, 1991) で述べられている方法と同様に r o l - 6 (s u 1 0 0 6) マー
5
10

(ノザン解析)

ラットのさまざまな組織から調製した 6 μ g の poly(A)+RNA をホルムアルデヒド-アガロース電気泳動で分離し、ナイロン膜に転写した。次にハイブリダイゼーション溶液 (最終濃度で 5 0 % のホルムアミド、5 \times S S P E、5 \times Denhardt's solution、0 . 5 % の S D S、1 0 0 μ g / m l の salmon sperm DNA を含む溶液) 中で、ランダム・プライム法で [32 P] ラベルした C H T 1 の c D N A 断片に対して 4 2 $^{\circ}$ C で 1 6 時間ハイブリダイズさせた。ナイロン膜は最終条件 (0 . 1 \times S S P E、
15
20 0 . 1 % の S D S : 6 5 $^{\circ}$ C) で洗浄後、エンハンシングスクリーン (enhancing screen) と共に 7 日間オートラジオグラフィーを行った。

(in situ ハイブリダイゼーション)

ジゴキシゲニンでラベルしたアンチセンスの転写産物は in vitro で合成した。転写産物は平均長 2 0 0 ~ 4 0 0 塩基対になるまでアルカリ分解を行った。新鮮凍結組織のクリオスタット切片 (1 0 ~ 2 0 μ m) を
25

用いた。ハイブリダイゼーションは $1\times$ Denhardt's 溶液 [最終濃度で 50 mM の Tris-HCl (pH 8.0)、2.5 mM の EDTA、0.3 M の NaCl、50 % のホルムアミド、10 % のデキストランサルフェート、1 mg/ml の大腸菌 (E. coli) の tRNA を含む溶液] に溶解させたラベル化 cRNA プロブ (およそ $1\mu\text{g/ml}$) で 45℃ で 20 時間行った。次に切片を $2\times$ SSC / 50 % のホルムアミド中で 2 回、 $1\times$ SSC / 50 % のホルムアミド中で 1 回、いずれも 45℃ で洗浄した。ハイブリダイズしたプロブを抗ジゴキシゲニン Fab 断片 (Boehringer-Mannheim) と NBT / BCIP 基質を用いて可視化した。

10 切片は基質溶液中で 24 - 48 時間反応させた。

(結合実験)

[^3H]ヘミコリニウム-3 (HC3; 128Ci/mmole) は NEN Life Science Products から入手した。pcDNA3.1-CHT1 あるいは pcDNA3.1 をそれぞれ COS7 細胞に一過性に発現させた。プロトコールに従って TransFast Reagent (プロメガ社製) を導入し用いた。膜調製は、細胞を 0.32 M スクロース中でホモジュナイズし、200,000 g で 1 時間遠心後、沈澱物を懸濁させた。結合実験は他で述べられている方法と本質的に同様に行った。特異的結合量は $10\mu\text{M}$ の HC3 存在下で決定した非特異的結合量を全体の結合量から差し引いて計算した。飽和結合実験のデータから特異的な [^3H] HC3 結合量を非線形近似で解析して K_d 値を算出した。

15

20

産業上の利用可能性

25 本発明によると、生理的に重要である高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質、それをコードする遺伝子 DNA を提供する

ことができる。また、それらタンパク質や遺伝子DNAを用いることにより、アルツハイマー症の予防や治療に有用な物質をスクリーニングすることや、遺伝子治療に有用な細胞を調製することができる。

請 求 の 範 囲

1. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子。
- 5 2. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。
(a)配列番号2に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質
(b)配列番号2に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質
- 10 3. 配列番号1に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA。
4. 請求項3記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする線虫由来のDNA。
- 15 5. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。
(a)配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質
(b)配列番号4に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質
- 20 6. 配列番号3に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA。
7. 請求項6記載の遺伝子を構成するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするラット由来のDNA。
- 25 8. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。
(a)配列番号6に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号 6 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質

9. 配列番号 5 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含む DNA。

10. 請求項 9 記載の遺伝子を構成する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするヒト由来の DNA。

11. 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。

10 (a)配列番号 8 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b)配列番号 8 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質

15 12. 配列番号 7 に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含む DNA。

13. 請求項 12 記載の遺伝子を構成する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードするマウス由来の DNA。

14. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質。

20 15. 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

16. 配列番号 2 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質。

17. 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

25 18. 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、か

ラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質。

19. 配列番号6に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

20. 配列番号6に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ

5 ヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質。

21. 配列番号8に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

22. 配列番号8に示されるアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質。

10 23. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質と、マーカータンパク質及び／又はペプチドタグとを結合させた融合タンパク質。

24. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項15又は16記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項23記載の融合タンパク質。

15 25. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項17又は18記載のラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項23記載の融合タンパク質。

20 26. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項19又は20記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項23記載の融合タンパク質。

25 27. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項21又は22記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性

を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 3 記載の融合タンパク質。

2 8. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質に特異的に結合する抗体。

5 2 9. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 5 又は 1 6 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体。

3 0. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 7 又は 1 8 記載のラット高親和性コリントランスポーター活性
10 を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体。

3 1. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 9 又は 2 0 記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体。

3 2. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、
15 請求項 2 1 又は 2 2 記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 2 8 記載の抗体。

3 3. 抗体がモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 2 8 ~ 3 2 のいずれか記載の抗体。

3 4. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発
20 現することができる発現系を含んでなる宿主細胞。

3 5. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項 1 5 又は 1 6 記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞。

3 6. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、
25 請求項 1 7 又は 1 8 記載のラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項 3 4 記載の宿主細胞。

37. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項19又は20記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項34記載の宿主細胞。
38. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、
5 請求項21又は22記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項34記載の宿主細胞。
39. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現することを特徴とする非ヒト動物。
- 10 40. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項15又は16記載の線虫高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項39記載の非ヒト動物。
41. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、
15 請求項17又は18記載のラット高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項39記載の非ヒト動物。
42. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項19又は20記載のヒト高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項39記載の非ヒト動物。
- 20 43. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、請求項21又は22記載のマウス高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質であることを特徴とする請求項39記載の非ヒト動物。
44. 非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求
25 項39～43のいずれか記載の非ヒト動物。
45. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコ

ードする遺伝子機能が染色体上で欠損した細胞に、請求項 8 ～ 10 のいずれか記載の遺伝子又は DNA を導入することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法。

46. 高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞が、請求項 5 8 ～ 10 のいずれか記載の遺伝子又は DNA が染色体にインテグレートされ、ステイブルに高親和性コリントランスポーター活性を示す細胞であることを特徴とする請求項 45 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法。

47. 請求項 45 又は 46 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞の調製方法により得られることを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性を有する細胞。

48. 被検物質の存在下、請求項 14 ～ 22 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の高親和性コリントランスポーター活性を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進又は抑制物質のスクリーニング方法。

49. 被検物質の存在下、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現している細胞膜又は細胞をインビトロで培養し、該細胞膜又は該細胞における高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

50. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現している細胞膜又は細胞が、請求項 34 ～ 38 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質を発現することができる発現系を含んでなる宿主細胞又は請求項 47 記載の高親和性コリ

ントランスポーター活性を有する細胞であることを特徴とする請求項 49 記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

5 51. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質が、組換えタンパク質であることを特徴とする請求項 48～50 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

10 52. 被検物質の存在下、請求項 39～44 のいずれか記載の非ヒト動物から得られた細胞をインビトロで培養し、該細胞における高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を測定・評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

15 53. 被検物質を非ヒト動物に投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

20 54. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現した非ヒト動物に被検物質を投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を評価することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

25

5 5. 高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質をコードする遺伝子機能が染色体上で欠損又は過剰発現した非ヒト動物に被検物質を投与し、高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性及び／又は発現量を野生型非ヒト動物の場合と比較・評価すること

5 することを特徴とする高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

5 6. 非ヒト動物が、マウス又はラットであることを特徴とする請求項 5 2 ～ 5 5 のいずれか記載の高親和性コリントランスポーター活性促進若しくは抑制物質又は高親和性コリントランスポーター発現促進若しくは抑制物質のスクリーニング方法。

10

5 7. 請求項 4 8 ～ 5 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質。

15 5 8. 請求項 4 8 ～ 5 6 のいずれか記載のスクリーニング方法により得られる高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を抑制する物質。

5 9. 高親和性コリントランスポーターの活性増加又は発現増強を必要としている患者を治療するのに用いられる医薬組成物であって、有効成分として請求項 1 4 ～ 2 2 のいずれか記載のタンパク質及び／又は請求項 5 7 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質の活性若しくは発現を促進する物質を含んでなる医薬組成物。

20

6 0. 高親和性コリントランスポーターの活性又は発現の抑制を必要としている患者を治療するのに用いられる医薬組成物であって、有効成分として請求項 1 4 ～ 2 2 のいずれか記載のタンパク質及び／又は請求項 5 8 記載の高親和性コリントランスポーター活性を有するタンパク質

25

の活性若しくは発現を抑制する物質を含んでなる医薬組成物。

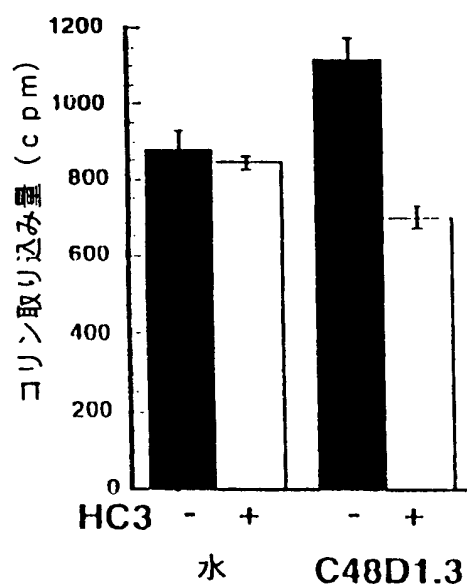
61. 検体中の高親和性コリントランスポーターをコードするDNA配列を、請求項19又は20記載のタンパク質をコードするDNA配列と比較することを特徴とする高親和性コリントランスポーターの発現又

5 は活性と関連する疾病の診断方法。

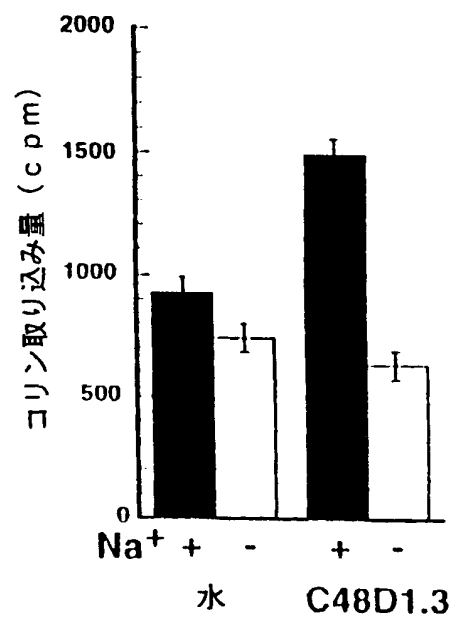
62. 請求項19又は20記載のタンパク質をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部からなるアルツハイマー症の診断用プローブ。

63. 請求項62記載の診断用プローブ及び／又は請求項28～33
10 のいずれか記載の抗体を含有することを特徴とするアルツハイマー症の診断薬。

第 1 図

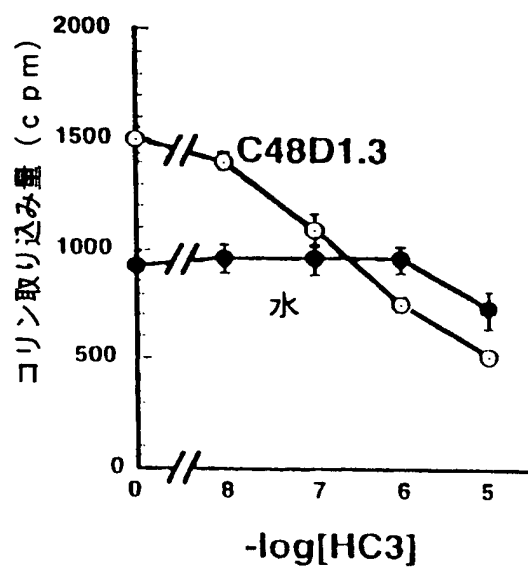


第 2 図





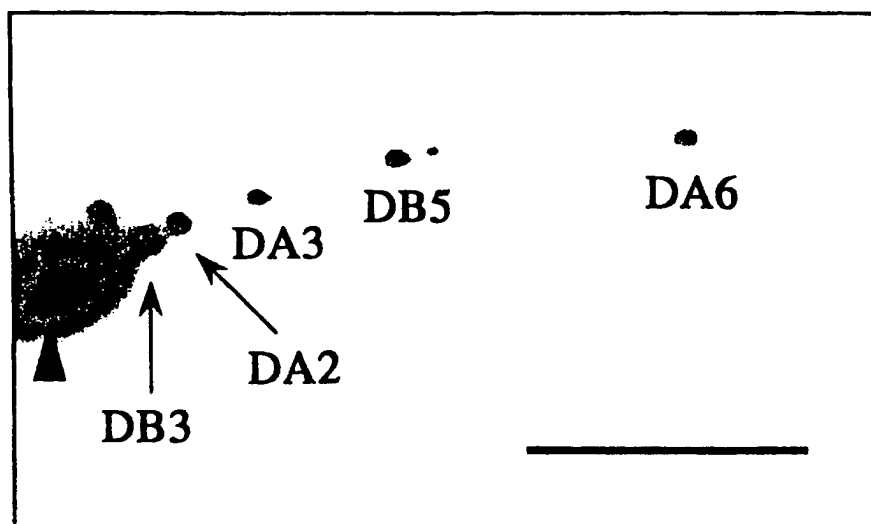
第 3 図



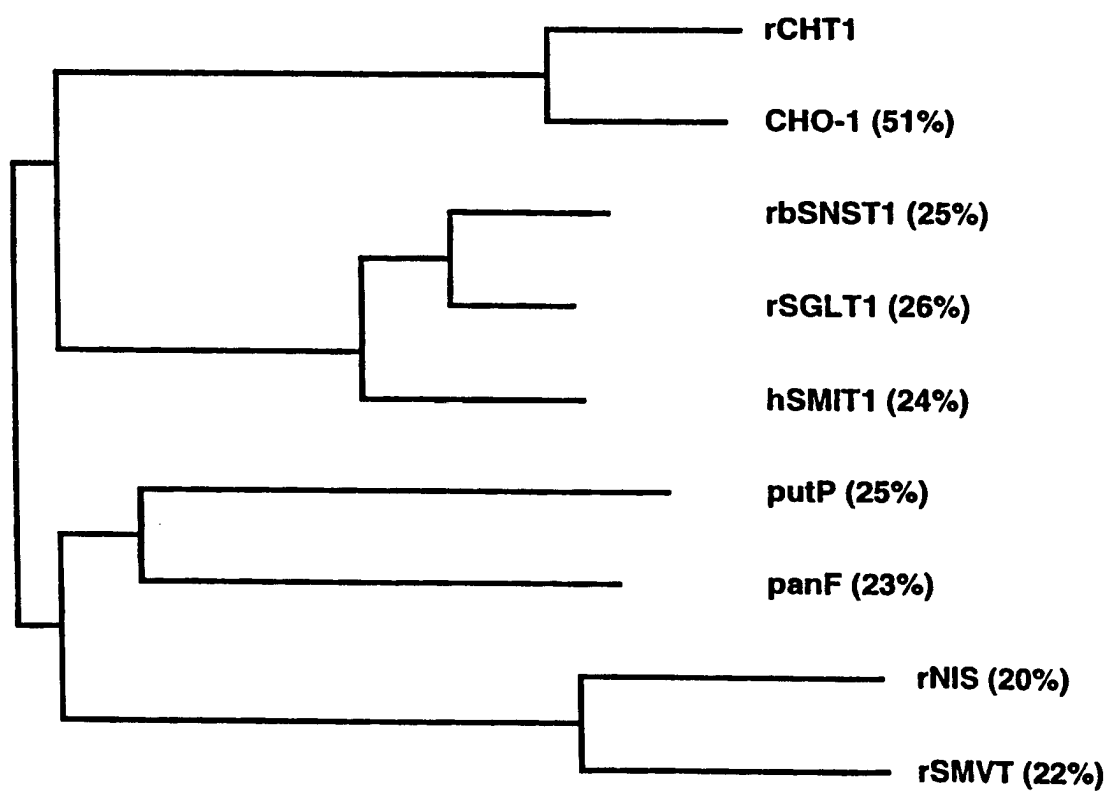
第 4 図

CHT1	MPFHVEGLVAITLIFYLLIELVGIWAANKTKNS-----GMAEERSEATLVGGRDIGLLVGGF	56
cht-1	-MADLLGIIVATVFFYVLLLVGIWAGRKSSKELESEAGAATEEVMLAGRNIGTLVGIF	59
I		
CHT1	TMTATWVGGGYINGTAEAVYGPCCGLAWAQAPITGYSLILGGLFFAKPMRSKGYVTMLD	116
cht-1	TMTATWVGGAINGTAEALYNG---GLLGCAQAPVGYAISLVMGGLLFAKKMREEGYITMLD	117
II		
CHT1	PFOQIYGKRMGGLLFI PALMGEMFWAAAI FSALGATISVIIDVDVNTSVIVSALITAILYT	176
cht-1	PFOHKYGORIGGLMYVPALLGETFWTAAIL SALGATLSVILGIDMNASVTLSACTAVFYT	177
III IV		
CHT1	LVGGLYSVAYTDVVQLFCIFIGLWISVPFALSHIPVVTDIGFTAVHAKYQSPWLGTIES-V	235
cht-1	FTGGYYAVAYTDVVQLFCIFVGLWVCVPAAMVHDGAKDISRNAG-----DWIGETGGFK	231
V		
CHT1	EVYTWLDNFM LMLGGIPWQAYFQRVLSSSSATYAQVLSFLAAGCLVMALPAICIGAIG	295
cht-1	ETSLWIDCM LLLVFGGIPWQVYFQRVLSSKTAHGAQTLSEVAGVGCILMAIPPALIGAIA	291
VI VII		
CHT1	ASTDWNQTAYGFPDPKTKEEAD-----MILPIVLQYLCPVYISFFGLGAVSAAMVSSAD	349
cht-1	RNTDWRMTDYSPWNGTKVESIPDPKRMVVPVLFQYLTIPRWVAFI GLGAVSAAMVSSAD	351
VIII		
CHT1	SSILSASSMFARNIYQLSFRQNASOKEIVWMRI TVFVF GASATAMALLTKTVGLWYLS	409
cht-1	SSVLSAASMFARNIWKLTIRPHASEKEVIIVMRIAICVGMATIMALTIQSIYGLWYLC	411
IX		
CHT1	SDLVYIIIFPQLLCVLFIKGTNTYGAVAGYIFGLFLRITGGEPYLYLQPLIFYPGYYPDK	469
cht-1	ADLVYIILFPQLLCVVMPRSN TYGSLAGYAVGLVRLIGGEPLVSLPAFFHYPAVT-D	469
X XI		
CHT1	NGIYNQRFPFKTL SMVTSFFTNICVSYLAKYLFESGTLPPKLDIFDAVVS---HSEENM	526
cht-1	G---VQYFPERITAMLSMATIYIVSIQSEKLFKSGRLSPENDVMGCVVNIPIDVPLPS	526
XII		
CHT1	DKTILVRNENIKLNELAPVKPRQSLTSSFTNKEALLDVS SPEGSGTIEDNLQ	580
cht-1	DVSFAVSSE--TLNMKAPNGTPAPVHPNQPSDENTLLHPYSDQSYYSINSN--	576

第 5 図

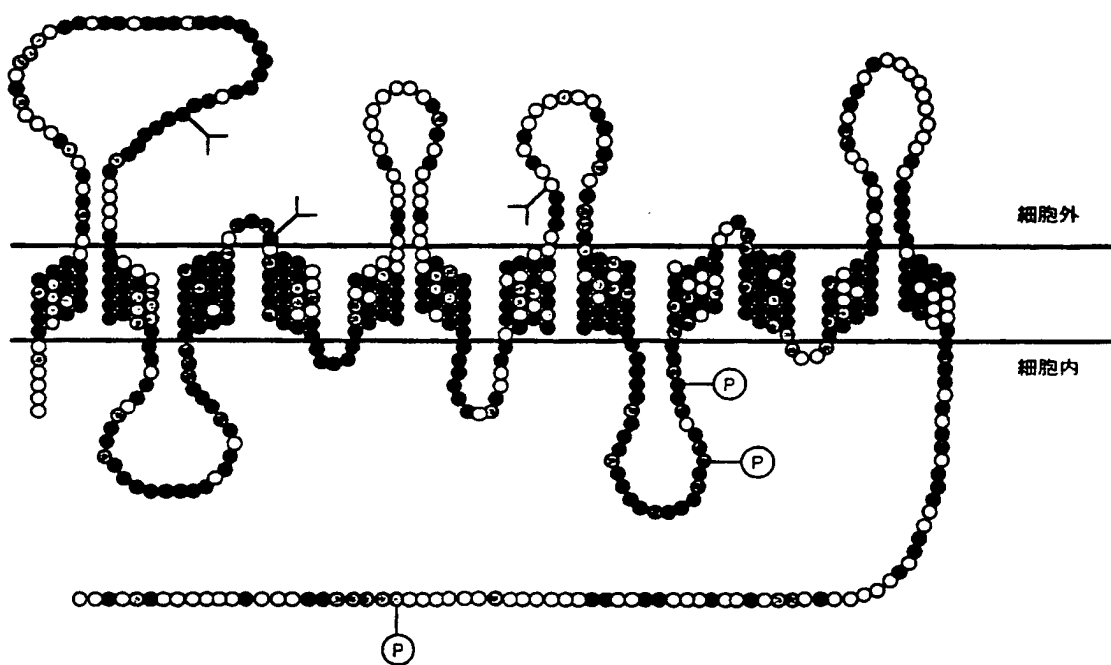


第 6 図

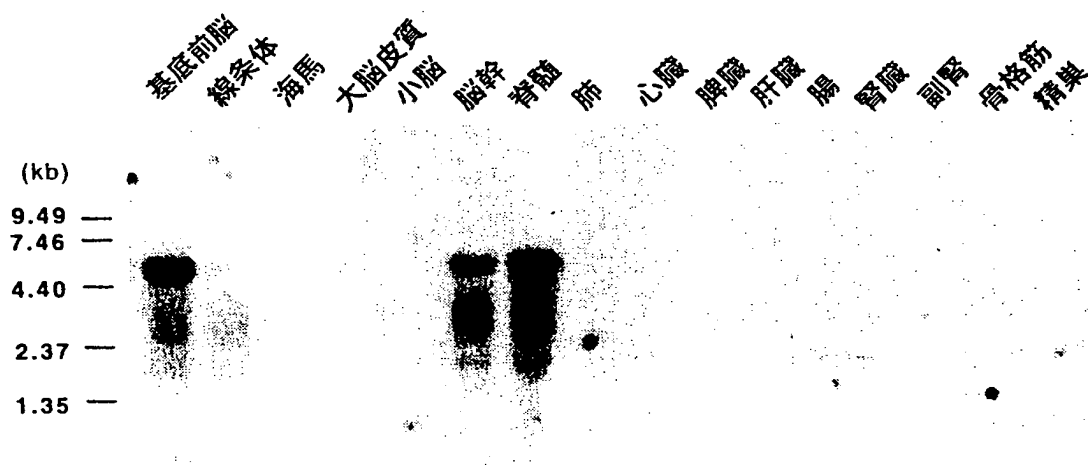




第 7 図

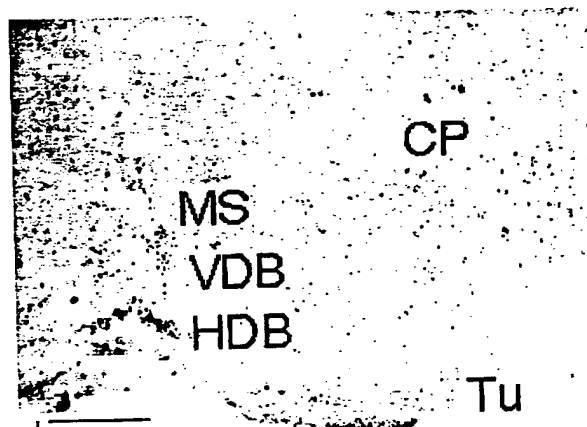


第 8 図

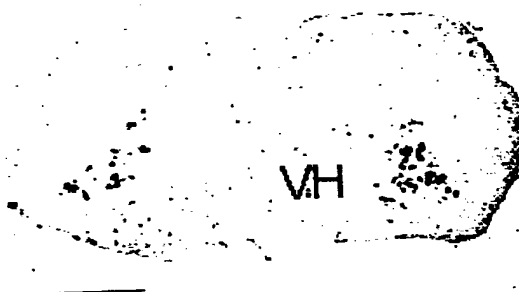




第 9 図

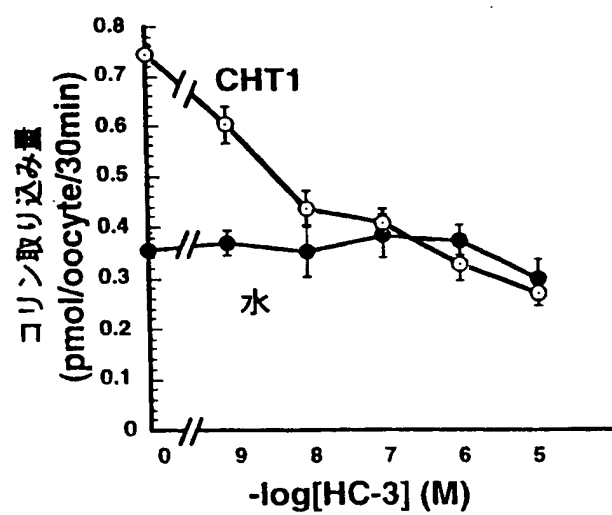


第 10 図

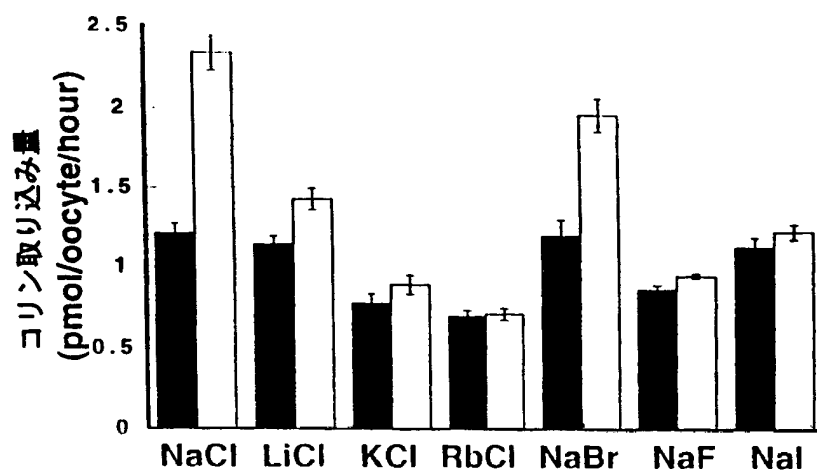




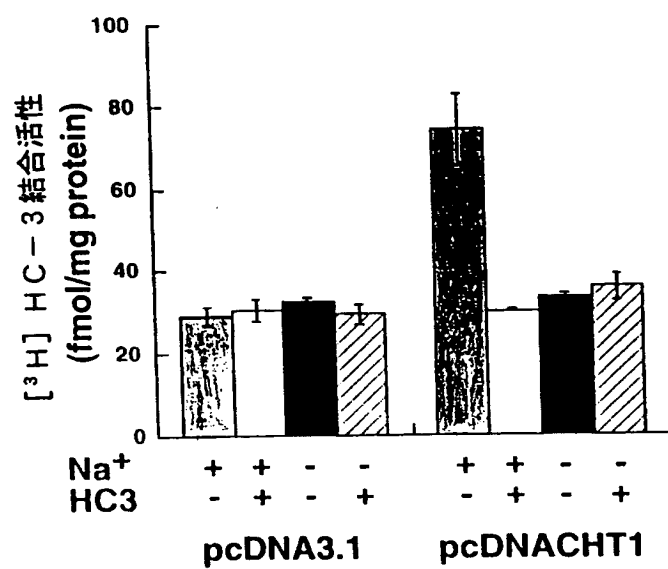
第 13 図



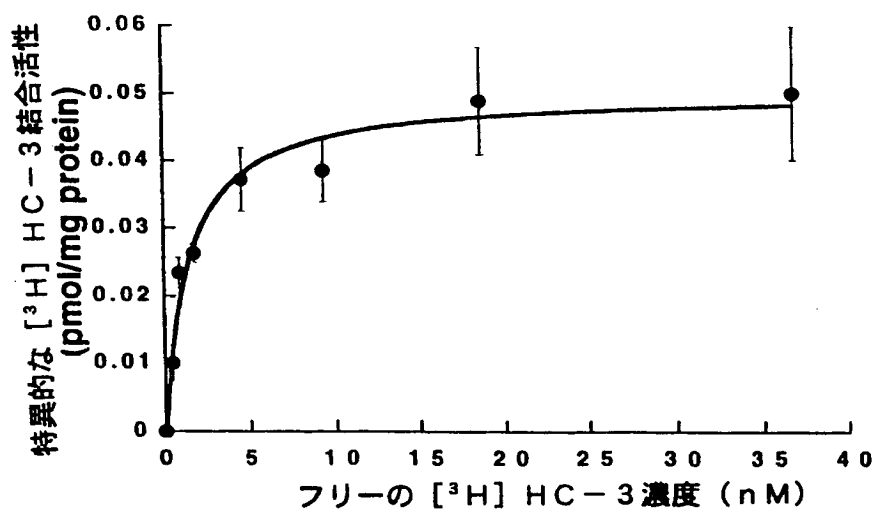
第 14 図



第 15 図

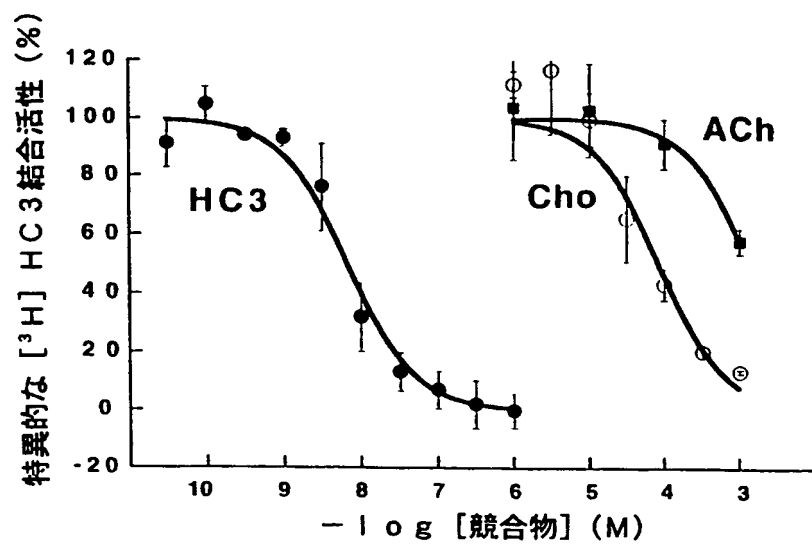


第 16 図





第 17 図





SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION

<120> High-Affinity Choline Transporter

<130> A011-05PCT

<140>

<141>

<150> JP 11/240642

<151> 1999-08-27

<150> JP 11/368991

<151> 1999-12-27

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1731

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1731)

<400> 1

atg gcc gac tta ttg ggt atc glg gcc att gtg ttc ttc tac gtg ctc 48

Met Ala Asp Leu Leu Gly Ile Val Ala Ile Val Phe Phe Tyr Val Leu

1

5

10

15



att ctt gtc gtt gga ata tgg gcg ggt aga aaa tcg aaa agt tca aaa 96
 Ile Leu Val Val Gly Ile Trp Ala Gly Arg Lys Ser Lys Ser Ser Lys
 20 25 30

gag ctt gaa tca gaa gcc ggc gcg gcg acg gaa gag gtg atg ita gct 144
 Glu Leu Glu Ser Glu Ala Gly Ala Ala Thr Glu Glu Val Met Leu Ala
 35 40 45

ggg aga aac atc gga act ctt gtc gga att ttc aca atg act gcc acg 192
 Gly Arg Asn Ile Gly Thr Leu Val Gly Ile Phe Thr Met Thr Ala Thr
 50 55 60

tgg gtt ggc ggt gct tat atc aat gga acc gcc gag gct ctg tat aat 240
 Trp Val Gly Gly Ala Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Leu Tyr Asn
 65 70 75 80

gga ggt ctc ctt gga tgt cag gct cca gtt gga tat gca att tcc ctt 288
 Gly Gly Leu Leu Gly Cys Gln Ala Pro Val Gly Tyr Ala Ile Ser Leu
 85 90 95

gtt atg gga gga cta ctt ttc gca aag aaa atg cga gaa gaa gga tat 336
 Val Met Gly Gly Leu Leu Phe Ala Lys Lys Met Arg Glu Glu Gly Tyr
 100 105 110

att aca atg ctc gat cct ttt cag cac aaa tat ggc caa cga atc ggt 384
 Ile Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln His Lys Tyr Gly Gln Arg Ile Gly
 115 120 125

ggc ttg atg tat gtt cca gca ctt ctt ggt gaa aca ttc tgg aca gca 432
 Gly Leu Met Tyr Val Pro Ala Leu Leu Gly Glu Thr Phe Trp Thr Ala
 130 135 140

gcc att ctt tcg gca ctt ggt gca aca ctg tcg gta att ctt gga atc 480
 Ala Ile Leu Ser Ala Leu Gly Ala Thr Leu Ser Val Ile Leu Gly Ile
 145 150 155 160



gac atg aat gca tca gtg acc ctg tcg gcc tgt att gcc gla ttc tac 528
Asp Met Asn Ala Ser Val Thr Leu Ser Ala Cys Ile Ala Val Phe Tyr

165

170

175

aca ttc acc ggt gga tac tat gca gtc gcg tac act gac gtc gtt caa 576
Thr Phe Thr Gly Gly Tyr Tyr Ala Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln

180

185

190

cta ttt tgc att ttc gtc ggt ttg tgg gtt tgc gtg ccg gcg gct atg 624
Leu Phe Cys Ile Phe Val Gly Leu Trp Val Cys Val Pro Ala Ala Met

195

200

205

gtg cat gat ggt gcg aag gat att tcc agg aat gca ggc gac tgg att 672
Val His Asp Gly Ala Lys Asp Ile Ser Arg Asn Ala Gly Asp Trp Ile

210

215

220

gga gag att gga gga ttc aaa gaa aca tct ctc tgg att gat tgc atg 720
Gly Glu Ile Gly Gly Phe Lys Glu Thr Ser Leu Trp Ile Asp Cys Met
225 230 235 240

ctt ctc ctt gtc ttt gga gga att cca tgg caa gtg tac ttc caa aga 768
Leu Leu Leu Val Phe Gly Gly Ile Pro Trp Gln Val Tyr Phe Gln Arg

245

250

255

gtt ctc tcc tca aaa act gct cat gga gca cag acg ttg tcg ttt gtg 816
Val Leu Ser Ser Lys Thr Ala His Gly Ala Gln Thr Leu Ser Phe Val

260

265

270

gcg ggc gtc gga tgc att ctc atg gcg att cca cca gcg ttg atc ggt 864
Ala Gly Val Gly Cys Ile Leu Met Ala Ile Pro Pro Ala Leu Ile Gly

275

280

285

gca att gcc agg aac aca gac tgg aga atg act gat tat tcc cca tgg 912
Ala Ile Ala Arg Asn Thr Asp Trp Arg Met Thr Asp Tyr Ser Pro Trp



290	295	300	
aac aat gga act aag gtc gaa tgc att cca ccg gat aag aga aac atg			960
Asn Asn Gly Thr Lys Val Glu Ser Ile Pro Pro Asp Lys Arg Asn Met			
305	310	315	320
gig gtc ccg ttg gta ttc cag tat ctt acg cca aga tgg gtc gcc ttt			1008
Val Val Pro Leu Val Phe Gln Tyr Leu Thr Pro Arg Trp Val Ala Phe			
	325	330	335
att gga ctc ggc gca gtg tgc gct gct gta atg tca tct gca gat tca			1056
Ile Gly Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser			
	340	345	350
tct gta cta tca gca gca tca atg ttt gct cac aac atc tgg aag ctc			1104
Ser Val Leu Ser Ala Ala Ser Met Phe Ala His Asn Ile Trp Lys Leu			
	355	360	365
aca att cgc cct cac gcg tct gaa aaa gaa gtg ata att gtg atg aga			1152
Thr Ile Arg Pro His Ala Ser Glu Lys Glu Val Ile Ile Val Met Arg			
	370	375	380
ata gcc atc atc tgt gtt ggt atc atg gca acc atc atg gca ctt acc			1200
Ile Ala Ile Ile Cys Val Gly Ile Met Ala Thr Ile Met Ala Leu Thr			
385	390	395	400
att caa tcc atc tat ggg ctt tgg tat ctt tgt gca gat ttg gtc tac			1248
Ile Gln Ser Ile Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Cys Ala Asp Leu Val Tyr			
	405	410	415
gtc ata ctc ttc cct caa cta tta tgt gtt gta tat atg cca cgt agc			1296
Val Ile Leu Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Val Tyr Met Pro Arg Ser			
	420	425	430
aat acg tat ggc tca ttg gct ggc tat gca gtc ggt ctt gtg ctc cgt			1344



Asn Thr Tyr Gly Ser Leu Ala Gly Tyr Ala Val Gly Leu Val Leu Arg
 435 440 445

tig att gga ggc gag cca ctt gta tgc ctg cca gcg ttc ttc cat tat 1392
 Leu Ile Gly Gly Glu Pro Leu Val Ser Leu Pro Ala Phe Phe His Tyr
 450 455 460

cca atg tat acg gat ggg gta cag tat ttc cca ttc agg aca act gct 1440
 Pro Met Tyr Thr Asp Gly Val Gln Tyr Phe Pro Phe Arg Thr Thr Ala
 465 470 475 480

atg tta tct tca atg gct act atc tac att gta tca ata caa tgc gag 1488
 Met Leu Ser Ser Met Ala Thr Ile Tyr Ile Val Ser Ile Gln Ser Glu
 485 490 495

aag ctg ttc aaa tgc gga cgt ttg tct ccg gag tgg gac gta atg ggt 1536
 Lys Leu Phe Lys Ser Gly Arg Leu Ser Pro Glu Trp Asp Val Met Gly
 500 505 510

tgt gta gtg aat att ccg ata gat cat gta ccc ctt ccg tca gat gta 1584
 Cys Val Val Asn Ile Pro Ile Asp His Val Pro Leu Pro Ser Asp Val
 515 520 525

tgc ttt gct gtt agt agt gag acc ttg aat atg aag gct cca aac gga 1632
 Ser Phe Ala Val Ser Ser Glu Thr Leu Asn Met Lys Ala Pro Asn Gly
 530 535 540

aca ccg gct cca gta cat ccg aac caa cag ccg tct gat gaa aat aca 1680
 Thr Pro Ala Pro Val His Pro Asn Gln Gln Pro Ser Asp Glu Asn Thr
 545 550 555 560

tta tta cat cca tat tgc gac caa agt tat tat tcc aca aat agc aat 1728
 Leu Leu His Pro Tyr Ser Asp Gln Ser Tyr Tyr Ser Thr Asn Ser Asn
 565 570 575



taa

1731

<210> 2

<211> 576

<212> PRT

<213> *Caenorhabditis elegans*

<400> 2

Met Ala Asp Leu Leu Gly Ile Val Ala Ile Val Phe Phe Tyr Val Leu

1 5 10 15

Ile Leu Val Val Gly Ile Trp Ala Gly Arg Lys Ser Lys Ser Ser Lys

20 25 30

Glu Leu Glu Ser Glu Ala Gly Ala Ala Thr Glu Glu Val Met Leu Ala

35 40 45

Gly Arg Asn Ile Gly Thr Leu Val Gly Ile Phe Thr Met Thr Ala Thr

50 55 60

Trp Val Gly Gly Ala Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Leu Tyr Asn

65 70 75 80

Gly Gly Leu Leu Gly Cys Gln Ala Pro Val Gly Tyr Ala Ile Ser Leu

85 90 95

Val Met Gly Gly Leu Leu Phe Ala Lys Lys Met Arg Glu Glu Gly Tyr

100 105 110

Ile Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln His Lys Tyr Gly Gln Arg Ile Gly

115 120 125

Gly Leu Met Tyr Val Pro Ala Leu Leu Gly Glu Thr Phe Trp Thr Ala

130 135 140

Ala Ile Leu Ser Ala Leu Gly Ala Thr Leu Ser Val Ile Leu Gly Ile

145 150 155 160

Asp Met Asn Ala Ser Val Thr Leu Ser Ala Cys Ile Ala Val Phe Tyr

165 170 175

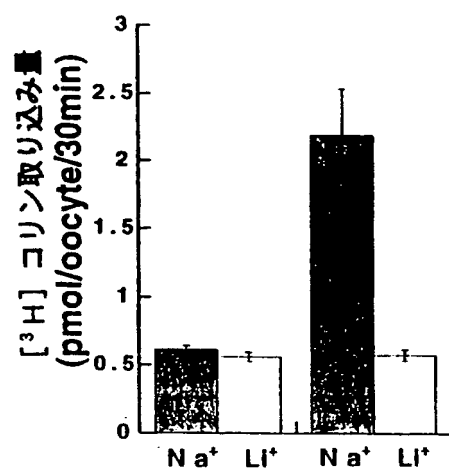
Thr Phe Thr Gly Gly Tyr Tyr Ala Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln

180 185 190

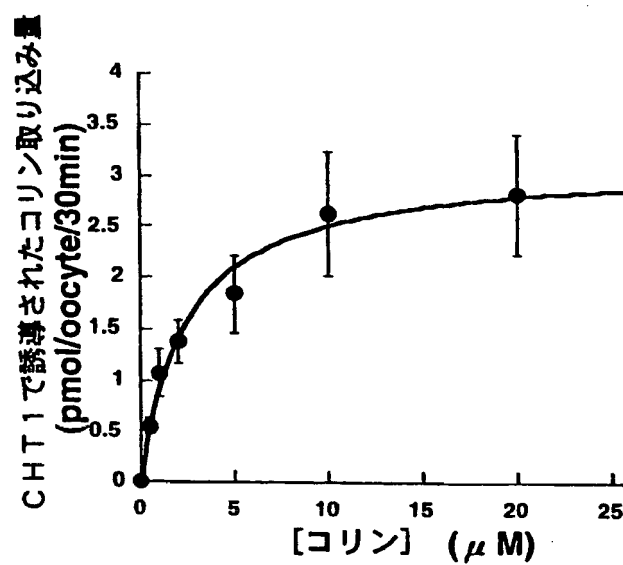
Leu Phe Cys Ile Phe Val Gly Leu Trp Val Cys Val Pro Ala Ala Met



第 1 1 図



第 1 2 図





195	200	205	
Val His Asp Gly Ala Lys Asp Ile Ser Arg Asn Ala Gly Asp Trp Ile			
210	215	220	
Gly Glu Ile Gly Gly Phe Lys Glu Thr Ser Leu Trp Ile Asp Cys Met			
225	230	235	240
Leu Leu Leu Val Phe Gly Gly Ile Pro Trp Gln Val Tyr Phe Gln Arg			
245	250	255	
Val Leu Ser Ser Lys Thr Ala His Gly Ala Gln Thr Leu Ser Phe Val			
260	265	270	
Ala Gly Val Gly Cys Ile Leu Met Ala Ile Pro Pro Ala Leu Ile Gly			
275	280	285	
Ala Ile Ala Arg Asn Thr Asp Trp Arg Met Thr Asp Tyr Ser Pro Trp			
290	295	300	
Asn Asn Gly Thr Lys Val Glu Ser Ile Pro Pro Asp Lys Arg Asn Met			
305	310	315	320
Val Val Pro Leu Val Phe Gln Tyr Leu Thr Pro Arg Trp Val Ala Phe			
325	330	335	
Ile Gly Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser			
340	345	350	
Ser Val Leu Ser Ala Ala Ser Met Phe Ala His Asn Ile Trp Lys Leu			
355	360	365	
Thr Ile Arg Pro His Ala Ser Glu Lys Glu Val Ile Ile Val Met Arg			
370	375	380	
Ile Ala Ile Ile Cys Val Gly Ile Met Ala Thr Ile Met Ala Leu Thr			
385	390	395	400
Ile Gln Ser Ile Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Cys Ala Asp Leu Val Tyr			
405	410	415	
Val Ile Leu Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Val Tyr Met Pro Arg Ser			
420	425	430	
Asn Thr Tyr Gly Ser Leu Ala Gly Tyr Ala Val Gly Leu Val Leu Arg			
435	440	445	
Leu Ile Gly Gly Glu Pro Leu Val Ser Leu Pro Ala Phe Phe His Tyr			
450	455	460	
Pro Met Tyr Thr Asp Gly Val Gln Tyr Phe Pro Phe Arg Thr Thr Ala			
465	470	475	480

Met Leu Ser Ser Met Ala Thr Ile Tyr Ile Val Ser Ile Gln Ser Glu
 485 490 495
 Lys Leu Phe Lys Ser Gly Arg Leu Ser Pro Glu Trp Asp Val Met Gly
 500 505 510
 Cys Val Val Asn Ile Pro Ile Asp His Val Pro Leu Pro Ser Asp Val
 515 520 525
 Ser Phe Ala Val Ser Ser Glu Thr Leu Asn Met Lys Ala Pro Asn Gly
 530 535 540
 Thr Pro Ala Pro Val His Pro Asn Gln Gln Pro Ser Asp Glu Asn Thr
 545 550 555 560
 Leu Leu His Pro Tyr Ser Asp Gln Ser Tyr Tyr Ser Thr Asn Ser Asn
 565 570 575

<210> 3

<211> 1743

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1743)

<400> 3

atg cct ttc cat gta gaa gga cta gta gcg att atc ctg ttc tac ctt 48
 Met Pro Phe His Val Glu Gly Leu Val Ala Ile Ile Leu Phe Tyr Leu
 1 5 10 15

ctt ala ttt ctg gtt gga ata tgg gct gca tgg aaa acc aaa aac agc 96
 Leu Ile Phe Leu Val Gly Ile Trp Ala Ala Trp Lys Thr Lys Asn Ser
 20 25 30

ggt aat gca gaa gaa cgc agc gaa gcc atc ata gtt ggg ggc cga gac 144
 Gly Asn Ala Glu Glu Arg Ser Glu Ala Ile Ile Val Gly Gly Arg Asp



35	40	45	
att ggt ttg ttg gtt ggt ggt ttt acc atg aca gcc acc tgg gtt gga			192
Ile Gly Leu Leu Val Gly Gly Phe Thr Met Thr Ala Thr Trp Val Gly			
50	55	60	
gga ggt tac atc aac ggg aca gct gaa gca gtt tat ggg cca ggt tgt			240
Gly Gly Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Val Tyr Gly Pro Gly Cys			
65	70	75	80
ggt cta gct tgg gct cag gca ccc att gga tat tct ctg agt ctg att			288
Gly Leu Ala Trp Ala Gln Ala Pro Ile Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Ile			
85	90	95	
tta ggt ggc ctg ttt ttt gca aaa cct atg cgt tcc aag gga tat gtg			336
Leu Gly Gly Leu Phe Phe Ala Lys Pro Met Arg Ser Lys Gly Tyr Val			
100	105	110	
act atg tta gac ccg ttt caa cag atc tat gga aag cgc atg ggt ggg			384
Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln Gln Ile Tyr Gly Lys Arg Met Gly Gly			
115	120	125	
ctg ctg ttc atc cct gca ctg atg gga gag atg ttc tgg gct gca gca			432
Leu Leu Phe Ile Pro Ala Leu Met Gly Glu Met Phe Trp Ala Ala Ala			
130	135	140	
att ttc tct gca tta ggg gct acc atc agc gla atc att gat gtg gat			480
Ile Phe Ser Ala Leu Gly Ala Thr Ile Ser Val Ile Ile Asp Val Asp			
145	150	155	160
gtg aac ata tcg gtc att gtc tcc gca ctc att gcc att ctt tat acc			528
Val Asn Ile Ser Val Ile Val Ser Ala Leu Ile Ala Ile Leu Tyr Thr			
165	170	175	
ctc gtg gga ggg ctc tac tct gtg gca tat act gat gtt gla cag cta			576



Leu Val Gly Gly Leu Tyr Ser Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln Leu
 180 185 190

ttc tgc att ttt ala gga ttg tgg atc agt gtc cca ttt gcc ctg tca 624
 Phe Cys Ile Phe Ile Gly Leu Trp Ile Ser Val Pro Phe Ala Leu Ser
 195 200 205

cat cct gca gtc acc gac att gga ttc act gct gtg cat gct aaa tac 672
 His Pro Ala Val Thr Asp Ile Gly Phe Thr Ala Val His Ala Lys Tyr
 210 215 220

cag agt ccc tgg ctg gga acc att gaa tca gtt gaa gtc tac acc tgg 720
 Gln Ser Pro Trp Leu Gly Thr Ile Glu Ser Val Glu Val Tyr Thr Trp
 225 230 235 240

ctt gat aat ttt ctg ttg ttg atg ctg ggt gga ata cca tgg caa gcc 768
 Leu Asp Asn Phe Leu Leu Leu Met Leu Gly Gly Ile Pro Trp Gln Ala
 245 250 255

tac ttc cag agg gtc ctc tct tca tct tca gcg acc tat gct cag gtg 816
 Tyr Phe Gln Arg Val Leu Ser Ser Ser Ser Ala Thr Tyr Ala Gln Val
 260 265 270

ctg tcc ttc ctg gca gct ttt ggg tgc ctg gtg atg gct cta cca gcc 864
 Leu Ser Phe Leu Ala Ala Phe Gly Cys Leu Val Met Ala Leu Pro Ala
 275 280 285

att tgc att ggg gcc att gga gcc tcc aca gac tgg aac caa act gca 912
 Ile Cys Ile Gly Ala Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala
 290 295 300

tat ggg ttt cca gat ccc aag acc aag gag gaa gca gac atg att ctc 960
 Tyr Gly Phe Pro Asp Pro Lys Thr Lys Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu
 305 310 315 320



ccg att gtt cta cag tac ctc tgc cct gtg tac att tcc ttc ttt ggg 1008
 Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly
 325 330 335

ctt ggt gct gtt tct gct gct gtc atg tcc tgc gct gac tca tcc atc 1056
 Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile
 340 345 350

cta tca gca agt tcc atg ttt gct cgg aat atc tac cag ctt tcc ttc 1104
 Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe
 355 360 365

aga caa aat gca tca gac aag gaa att gtg tgg gtc atg agg atc act 1152
 Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr
 370 375 380

gtg ttt gtg ttt gga gca tct gca aca gcc atg gcc tlg ctc acg aag 1200
 Val Phe Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys
 385 390 395 400

act gtg tat ggg ctc tgg tac ctg agc tct gac ctt gtc tac atc atc 1248
 Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Ile
 405 410 415

atc ttc cca cag ctg ctc tgt gta ctc ttc atc aaa gga acc aac act 1296
 Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Ile Lys Gly Thr Asn Thr
 420 425 430

tat ggg gca gtt gct ggt tat att ttt gga ctt ttc ctg aga att acc 1344
 Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Ile Phe Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr
 435 440 445

gga gga gag cca tat cta tac tlg cag ccc tta atc ttc tac cct ggt 1392
 Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly
 450 455 460



tat tac cct gac aag aat ggt ata tac aat cag agg ttc cca ttt aaa 1440
 Tyr Tyr Pro Asp Lys Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Pro Phe Lys
 465 470 475 480

act ctc tcc atg gtt acc tca ttc ttt acc aac att tgt gtt tcc tat 1488
 Thr Leu Ser Met Val Thr Ser Phe Phe Thr Asn Ile Cys Val Ser Tyr
 485 490 495

cta gcc aag tat cta ttt gaa agt gga acc ttg cct cca aaa tta gat 1536
 Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp
 500 505 510

ata ttt gat gct gtt gtc tca agg cac agt gaa gag aac atg gac aag 1584
 Ile Phe Asp Ala Val Val Ser Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys
 515 520 525

acc att cta gtc aga aat gaa aac atc aaa tta aat gaa ctt gca cct 1632
 Thr Ile Leu Val Arg Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asn Glu Leu Ala Pro
 530 535 540

gta aag cct cga cag agc cta acc ctc agt tca act ttc acc aat aaa 1680
 Val Lys Pro Arg Gln Ser Leu Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys
 545 550 555 560

gag gct ctc ctt gat gtt gat tcc agt cca gag gga tct ggg act gaa 1728
 Glu Ala Leu Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu
 565 570 575

gat aac tta caa tga 1743
 Asp Asn Leu Gln
 580

<210> 4



<211> 580

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

Met Pro Phe His Val Glu Gly Leu Val Ala Ile Ile Leu Phe Tyr Leu

1 5 10 15

Leu Ile Phe Leu Val Gly Ile Trp Ala Ala Trp Lys Thr Lys Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Ala Glu Glu Arg Ser Glu Ala Ile Ile Val Gly Gly Arg Asp

35 40 45

Ile Gly Leu Leu Val Gly Gly Phe Thr Met Thr Ala Thr Trp Val Gly

50 55 60

Gly Gly Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Val Tyr Gly Pro Gly Cys

65 70 75 80

Gly Leu Ala Trp Ala Gln Ala Pro Ile Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Ile

85 90 95

Leu Gly Gly Leu Phe Phe Ala Lys Pro Met Arg Ser Lys Gly Tyr Val

100 105 110

Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln Gln Ile Tyr Gly Lys Arg Met Gly Gly

115 120 125

Leu Leu Phe Ile Pro Ala Leu Met Gly Glu Met Phe Trp Ala Ala Ala

130 135 140

Ile Phe Ser Ala Leu Gly Ala Thr Ile Ser Val Ile Ile Asp Val Asp

145 150 155 160

Val Asn Ile Ser Val Ile Val Ser Ala Leu Ile Ala Ile Leu Tyr Thr

165 170 175

Leu Val Gly Gly Leu Tyr Ser Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln Leu

180 185 190

Phe Cys Ile Phe Ile Gly Leu Trp Ile Ser Val Pro Phe Ala Leu Ser

195 200 205

His Pro Ala Val Thr Asp Ile Gly Phe Thr Ala Val His Ala Lys Tyr

210 215 220

Gln Ser Pro Trp Leu Gly Thr Ile Glu Ser Val Glu Val Tyr Thr Trp

225 230 235 240



Leu Asp Asn Phe Leu Leu Leu Met Leu Gly Gly Ile Pro Trp Gln Ala
 245 250 255
 Tyr Phe Gln Arg Val Leu Ser Ser Ser Ser Ala Thr Tyr Ala Gln Val
 260 265 270
 Leu Ser Phe Leu Ala Ala Phe Gly Cys Leu Val Met Ala Leu Pro Ala
 275 280 285
 Ile Cys Ile Gly Ala Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala
 290 295 300
 Tyr Gly Phe Pro Asp Pro Lys Thr Lys Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu
 305 310 315 320
 Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly
 325 330 335
 Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile
 340 345 350
 Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe
 355 360 365
 Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr
 370 375 380
 Val Phe Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys
 385 390 395 400
 Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Ile
 405 410 415
 Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Ile Lys Gly Thr Asn Thr
 420 425 430
 Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Ile Phe Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr
 435 440 445
 Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly
 450 455 460
 Tyr Tyr Pro Asp Lys Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Pro Phe Lys
 465 470 475 480
 Thr Leu Ser Met Val Thr Ser Phe Phe Thr Asn Ile Cys Val Ser Tyr
 485 490 495
 Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp
 500 505 510
 Ile Phe Asp Ala Val Val Ser Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys



515 520 525
 Thr Ile Leu Val Arg Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asn Glu Leu Ala Pro
 530 535 540
 Val Lys Pro Arg Gln Ser Leu Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys
 545 550 555 560
 Glu Ala Leu Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu
 565 570 575
 Asp Asn Leu Gln
 580

<210> 5

<211> 1743

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1743)

<400> 5

atg gct ttc cat gtg gaa gga ctg ata gct atc atc gtg ttc tac ctt 48
 Met Ala Phe His Val Glu Gly Leu Ile Ala Ile Ile Val Phe Tyr Leu
 1 5 10 15

cta att ttg ctg gtt gga ata tgg gct gcc tgg aga acc aaa aac agt 96
 Leu Ile Leu Leu Val Gly Ile Trp Ala Ala Trp Arg Thr Lys Asn Ser
 20 25 30

ggc agc gca gaa gag cgc agc gaa gcc atc ata gtt ggt ggc cga gat 144
 Gly Ser Ala Glu Glu Arg Ser Glu Ala Ile Ile Val Gly Gly Arg Asp
 35 40 45

att ggt tta ttg gtt ggt gga ttt acc atg aca gct acc tgg gtc gga 192



Ile Gly Leu Leu Val Gly Gly Phe Thr Met Thr Ala Thr Trp Val Gly

50

55

60

gga ggg tat atc aat ggc aca gct gaa gca gtt tat gta cca ggt tat 240

Gly Gly Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Val Tyr Val Pro Gly Tyr

65

70

75

80

ggc cta gct tgg gct cag gca cca att gga tat tct ctt agt ctg att 288

Gly Leu Ala Trp Ala Gln Ala Pro Ile Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Ile

85

90

95

tta ggt ggc ctg ttc ttt gca aaa cct atg cgt tca aag ggg tat gtg 336

Leu Gly Gly Leu Phe Phe Ala Lys Pro Met Arg Ser Lys Gly Tyr Val

100

105

110

acc atg tta gac ccg ttt cag caa atc tat gga aaa cgc atg ggc gga 384

Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln Gln Ile Tyr Gly Lys Arg Met Gly Gly

115

120

125

ctc ctg ttt att cct gca ctg atg gga gaa atg ttc tgg gct gca gca 432

Leu Leu Phe Ile Pro Ala Leu Met Gly Glu Met Phe Trp Ala Ala Ala

130

135

140

att ttc tct gct ttg gga gcc acc atc agc gtg atc atc gat gtg gat 480

Ile Phe Ser Ala Leu Gly Ala Thr Ile Ser Val Ile Ile Asp Val Asp

145

150

155

160

atg cac att tct gtc atc atc tct gca ctc att gcc act ctg tac aca 528

Met His Ile Ser Val Ile Ile Ser Ala Leu Ile Ala Thr Leu Tyr Thr

165

170

175

ctg gtg gga ggg ctc tat tct gtg gcc tac act gat gtc gtt cag ctc 576

Leu Val Gly Gly Leu Tyr Ser Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln Leu

180

185

190



ttt tgc att ttt gla ggg ctg tgg atc agc gtc ccc ttt gca ttg tca	624
Phe Cys Ile Phe Val Gly Leu Trp Ile Ser Val Pro Phe Ala Leu Ser	
195 200 205	
cat cct gca gtc gca gac atc ggg ttc act gct gtg cat gcc aaa tac	672
His Pro Ala Val Ala Asp Ile Gly Phe Thr Ala Val His Ala Lys Tyr	
210 215 220	
caa aag ccg tgg ctg gga act gtt gac tca tct gaa gtc tac tct tgg	720
Gln Lys Pro Trp Leu Gly Thr Val Asp Ser Ser Glu Val Tyr Ser Trp	
225 230 235 240	
ctt gat agt ttt ctg ttg ttg atg ctg ggt gga atc cca tgg caa gca	768
Leu Asp Ser Phe Leu Leu Leu Met Leu Gly Gly Ile Pro Trp Gln Ala	
245 250 255	
tac ttt cag agg gtt ctg tct tct tcc tca gcc acc tat gct caa gtg	816
Tyr Phe Gln Arg Val Leu Ser Ser Ser Ser Ala Thr Tyr Ala Gln Val	
260 265 270	
ctg tcc ttc ctg gca gct ttc ggg tgc ctg gtg atg gcc atc cca gcc	864
Leu Ser Phe Leu Ala Ala Phe Gly Cys Leu Val Met Ala Ile Pro Ala	
275 280 285	
ata ctg att ggg gcc att gga gca tca aca gac tgg aac cag act gca	912
Ile Leu Ile Gly Ala Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala	
290 295 300	
tat ggg ctt cca gat ccc aag act aca gaa gag gca gac atg att tta	960
Tyr Gly Leu Pro Asp Pro Lys Thr Thr Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu	
305 310 315 320	
cca att gtt ctg cag tat ctg tgc cct gtg tat att tct ttc ttt ggt	1008
Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly	
325 330 335	



ctt ggt gca gtt tct gct gct gtt atg tca tca gca gat tct tcc atc 1056
 Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile

340

345

350

tig tca gca agt tcc atg ttt gca cgg aac atc tac cag ctt tcc ttc 1104
 Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe

355

360

365

aga caa aat gct tcg gac aaa gaa atc gtt tgg gtt atg cga atc aca 1152
 Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr

370

375

380

gtg ttt gtg ttt gga gca tct gca aca gcc atg gcc ttg ctg acg aaa 1200
 Val Phe Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys

385

390

395

400

act gtg tat ggg ctc igg tac ctc agt tct gac ctt gtt tac atc gtt 1248
 Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Val

405

410

415

atc ttc ccc cag ctg ctt tgt gta ctc ttt gtt aag gga acc aac acc 1296
 Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Val Lys Gly Thr Asn Thr

420

425

430

tat ggg gcc gtg gca ggt tat gtt tct ggc ctc ttc ctg aga ata act 1344
 Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Val Ser Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr

435

440

445

gga ggg gag cca tat ctg tat ctt cag ccc ttg atc ttc tac cct ggc 1392
 Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly

450

455

460

tat tac cct gat gat aat ggt ata tat aat cag aaa ttt cca ttt aaa 1440
 Tyr Tyr Pro Asp Asp Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Pro Phe Lys



465	470	475	480	
aca ctt gcc atg gtt aca tca ttc tta acc aac att tgc atc tcc tat				1488
Thr Leu Ala Met Val Thr Ser Phe Leu Thr Asn Ile Cys Ile Ser Tyr				
	485	490	495	
cia gcc aag tat cia ttt gaa agt gga acc ttg cca cct aaa tta gat				1536
Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp				
	500	505	510	
gia ttt gat gct gtt gtt gca aga cac agt gaa gaa aac atg gat aag				1584
Val Phe Asp Ala Val Val Ala Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys				
	515	520	525	
aca att ctt gtc aaa aat gaa aat att aaa tta gat gaa ctt gca ctt				1632
Thr Ile Leu Val Lys Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asp Glu Leu Ala Leu				
	530	535	540	
gtg aag cca cga cag agc atg acc ctc agc tca act ttc acc aat aaa				1680
Val Lys Pro Arg Gln Ser Met Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys				
	545	550	555	560
gag gcc ttc ctt gat gtt gat tcc agt cca gaa ggg tct ggg act gaa				1728
Glu Ala Phe Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu				
	565	570	575	
gat aat tta cag tga				1743
Asp Asn Leu Gln				
	580			

<210> 6

<211> 580

<212> PRT

<213> Homo sapiens



<400> 6

Met Ala Phe His Val Glu Gly Leu Ile Ala Ile Ile Val Phe Tyr Leu
1 5 10 15
Leu Ile Leu Leu Val Gly Ile Trp Ala Ala Trp Arg Thr Lys Asn Ser
20 25 30
Gly Ser Ala Glu Glu Arg Ser Glu Ala Ile Ile Val Gly Gly Arg Asp
35 40 45
Ile Gly Leu Leu Val Gly Gly Phe Thr Met Thr Ala Thr Trp Val Gly
50 55 60
Gly Gly Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Val Tyr Val Pro Gly Tyr
65 70 75 80
Gly Leu Ala Trp Ala Gln Ala Pro Ile Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Ile
85 90 95
Leu Gly Gly Leu Phe Phe Ala Lys Pro Met Arg Ser Lys Gly Tyr Val
100 105 110
Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln Gln Ile Tyr Gly Lys Arg Met Gly Gly
115 120 125
Leu Leu Phe Ile Pro Ala Leu Met Gly Glu Met Phe Trp Ala Ala Ala
130 135 140
Ile Phe Ser Ala Leu Gly Ala Thr Ile Ser Val Ile Ile Asp Val Asp
145 150 155 160
Met His Ile Ser Val Ile Ile Ser Ala Leu Ile Ala Thr Leu Tyr Thr
165 170 175
Leu Val Gly Gly Leu Tyr Ser Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln Leu
180 185 190
Phe Cys Ile Phe Val Gly Leu Trp Ile Ser Val Pro Phe Ala Leu Ser
195 200 205
His Pro Ala Val Ala Asp Ile Gly Phe Thr Ala Val His Ala Lys Tyr
210 215 220
Gln Lys Pro Trp Leu Gly Thr Val Asp Ser Ser Glu Val Tyr Ser Trp
225 230 235 240
Leu Asp Ser Phe Leu Leu Leu Met Leu Gly Gly Ile Pro Trp Gln Ala
245 250 255
Tyr Phe Gln Arg Val Leu Ser Ser Ser Ser Ala Thr Tyr Ala Gln Val



	260	265	270
Leu Ser Phe Leu Ala Ala Phe Gly Cys Leu Val Met Ala Ile Pro Ala			
275	280	285	
Ile Leu Ile Gly Ala Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala			
290	295	300	
Tyr Gly Leu Pro Asp Pro Lys Thr Thr Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu			
305	310	315	320
Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly			
325	330	335	
Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile			
340	345	350	
Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe			
355	360	365	
Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr			
370	375	380	
Val Phe Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys			
385	390	395	400
Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Val			
405	410	415	
Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Val Lys Gly Thr Asn Thr			
420	425	430	
Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Val Ser Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr			
435	440	445	
Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly			
450	455	460	
Tyr Tyr Pro Asp Asp Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Pro Phe Lys			
465	470	475	480
Thr Leu Ala Met Val Thr Ser Phe Leu Thr Asn Ile Cys Ile Ser Tyr			
485	490	495	
Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp			
500	505	510	
Val Phe Asp Ala Val Val Ala Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys			
515	520	525	
Thr Ile Leu Val Lys Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asp Glu Leu Ala Leu			
530	535	540	



Val Lys Pro Arg Gln Ser Met Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys
 545 550 555 560
 Glu Ala Phe Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu
 565 570 575
 Asp Asn Leu Gln
 580

<210> 7

<211> 1743

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1743)

<400> 7

atg tct ttc cac gta gaa gga cag gta gct att atc ctc ttc tac ctc 48
 Met Ser Phe His Val Glu Gly Leu Val Ala Ile Ile Leu Phe Tyr Leu
 1 5 10 15

cct ata ttt ctg gtt gga ata tgg gct gca tgg aaa acc aaa aac agc 96
 Leu Ile Phe Leu Val Gly Ile Trp Ala Ala Trp Lys Thr Lys Asn Ser
 20 25 30

ggc aac cca gaa gag cac agt gaa gcc atc ata gtc ggg ggc cgt gac 144
 Gly Asn Pro Glu Glu His Ser Glu Ala Ile Ile Val Gly Gly Arg Asp
 35 40 45

att ggt ttg ttg gtt ggt ggt ttt acc atg aca gcc acc tgg gtt gga 192
 Ile Gly Leu Leu Val Gly Gly Phe Thr Met Thr Ala Thr Trp Val Gly
 50 55 60



gga ggc tac atc aat ggg aca gca gaa gca gtg tat ggg cca ggt tgt 240
 Gly Gly Tyr Ile Asn Gly Thr Ala Glu Ala Val Tyr Gly Pro Gly Cys
 65 70 75 80

ggt cta gct tgg gct cag gca ccc att gga tat tct ctg agt cta att 288
 Gly Leu Ala Trp Ala Gln Ala Pro Ile Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Ile
 85 90 95

tta ggt ggt ctg ttt ttt gcg aaa cct atg cgt tcc aag gga tat gtg 336
 Leu Gly Gly Leu Phe Phe Ala Lys Pro Met Arg Ser Lys Gly Tyr Val
 100 105 110

act atg tta gac cca ttt caa cag atc tat gga aag cgc atg ggt ggg 384
 Thr Met Leu Asp Pro Phe Gln Gln Ile Tyr Gly Lys Arg Met Gly Gly
 115 120 125

ctg ctc ttc atc cct gca ctg atg gga gag atg ttc tgg gct gca gca 432
 Leu Leu Phe Ile Pro Ala Leu Met Gly Glu Met Phe Trp Ala Ala Ala
 130 135 140

att ttc tct gca tta ggg gcc acc atc agc gtg atc att gat gig gat 480
 Ile Phe Ser Ala Leu Gly Ala Thr Ile Ser Val Ile Ile Asp Val Asp
 145 150 155 160

gtg aac ata tgc gtc att gtc tct gca ctc att gcc att ctt tat acc 528
 Val Asn Ile Ser Val Ile Val Ser Ala Leu Ile Ala Ile Leu Tyr Thr
 165 170 175

cta gtg ggt ggg ctc tac tct gtg gca tat act gat gtt gtc cag cta 576
 Leu Val Gly Gly Leu Tyr Ser Val Ala Tyr Thr Asp Val Val Gln Leu
 180 185 190

ttc tgc att ttt ata gga ctg tgg atc agt gtc cct ttt gcc ctg tca 624
 Phe Cys Ile Phe Ile Gly Leu Trp Ile Ser Val Pro Phe Ala Leu Ser
 195 200 205



cat cct gca gtc acc gac atc gga ttc aca gct gtg cat gct aaa tac	672
His Pro Ala Val Thr Asp Ile Gly Phe Thr Ala Val His Ala Lys Tyr	
210 215 220	
cag agt ccc tgg ctg gga acc att gaa tca gtt gaa gtc tac acc tgg	720
Gln Ser Pro Trp Leu Gly Thr Ile Glu Ser Val Glu Val Tyr Thr Trp	
225 230 235 240	
ctt gat aat ttt ctg tta ttg atg ctg ggt gga atc cca tgg caa gcc	768
Leu Asp Asn Phe Leu Leu Leu Met Leu Gly Gly Ile Pro Trp Gln Ala	
245 250 255	
tac ttc cag agg gtc ctc tct tca tcc tca gcc acc tat gct cag gta	816
Tyr Phe Gln Arg Val Leu Ser Ser Ser Ser Ala Thr Tyr Ala Gln Val	
260 265 270	
ctg tcc ttc ctg gca gct ttt ggg tgc ctg gtg atg gct cta ccc gcc	864
Leu Ser Phe Leu Ala Ala Phe Gly Cys Leu Val Met Ala Leu Pro Ala	
275 280 285	
ata tgc ata gga gct att gga gct tcc aca gac tgg aac cag act gcc	912
Ile Cys Ile Gly Ala Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala	
290 295 300	
tac ggg tat cca gat ccc aag act aag gag gaa gca gac atg att ctc	960
Tyr Gly Tyr Pro Asp Pro Lys Thr Lys Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu	
305 310 315 320	
ccg atc gtt ctg cag tac ctc tgc cct gtg tac atc tcc ttc ttt ggg	1008
Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly	
325 330 335	
ctt ggt gct gtt tca gct gct gtc atg tcc tca gct gac tgc tcc atc	1056
Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile	



340	345	350	
ctc tgc gcg agt tct atg ttt gct cgg aat atc tac cag ctt tcc ttc Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe			1104
355	360	365	
aga caa aat gca tca gac aag gaa att gtg tgg gtc atg agg atc act Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr			1152
370	375	380	
gtg ctt gtg ttc gga gca tct gca aca gcc atg gct ttg ctg acg aag Val Leu Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys			1200
385	390	395	400
act gtg tat ggg ctc tgg tac ctg agc tct gac ctt gtc tac atc atc Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Ile			1248
405	410	415	
atc ttc cca cag ctg ctc tgt gla ctc ttc atc aaa gga acc aac act Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Ile Lys Gly Thr Asn Thr			1296
420	425	430	
tat ggg gca gtt gct ggt tat att ttt gga cta ttc ctg aga att act Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Ile Phe Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr			1344
435	440	445	
gga gga gag cca tat cta tac ttg cag ccc tta atc ttc tac cct ggt Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly			1392
450	455	460	
tat tac tct gac aag aat ggt ata tac aat cag agg ttc cca ttt aaa Tyr Tyr Ser Asp Lys Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Pro Phe Lys			1440
465	470	475	480
act ctc tcc atg gtt acc tca ttc ttt acc aac att tgt gtt tct tat			1488



Thr Leu Ser Met Val Thr Ser Phe Phe Thr Asn Ile Cys Val Ser Tyr
 485 490 495

cta gcc aag tat cta ttt gaa agt gga acc ttg cct cca aaa tta gat 1536
 Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp
 500 505 510

gta ttt gat gct gtt gtc gca agg cac agt gaa gag aac atg gac aag 1584
 Val Phe Asp Ala Val Val Ala Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys
 515 520 525

acc att cta gtc aga aat gaa aat atc aaa tta aat gaa ctt gca cct 1632
 Thr Ile Leu Val Arg Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asn Glu Leu Ala Pro
 530 535 540

gtg aaa cct cgg cag agc cta acc ctc agt tca act ttc acc aat aag 1680
 Val Lys Pro Arg Gln Ser Leu Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys
 545 550 555 560

gag gcc ctc ctt gat gtt gat tcc agt ccg gag ggg tct ggg act gaa 1728
 Glu Ala Leu Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu
 565 570 575

gat aac tta caa tga 1743
 Asp Asn Leu Gln
 580

<210> 8

<211> 580

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Met Ser Phe His Val Glu Gly Leu Val Ala Ile Ile Leu Phe Tyr Leu



1	5	10	15
Leu Ile Phe	Leu Val Gly Ile	Trp Ala Ala Trp	Lys Thr Lys Asn Ser
20	25	30	
Gly Asn Pro	Glu Glu His Ser	Glu Ala Ile Ile	Val Gly Gly Arg Asp
35	40	45	
Ile Gly Leu	Leu Val Gly Gly	Phe Thr Met Thr	Ala Thr Trp Val Gly
50	55	60	
Gly Gly Tyr	Ile Asn Gly Thr	Ala Glu Ala Val	Tyr Gly Pro Gly Cys
65	70	75	80
Gly Leu Ala	Trp Ala Gln Ala	Pro Ile Gly Tyr	Ser Leu Ser Leu Ile
85	90	95	
Leu Gly Gly	Leu Phe Phe Ala	Lys Pro Met Arg	Ser Lys Gly Tyr Val
100	105	110	
Thr Met Leu	Asp Pro Phe Gln	Gln Ile Tyr Gly	Lys Arg Met Gly Gly
115	120	125	
Leu Leu Phe	Ile Pro Ala Leu	Met Gly Glu Met	Phe Trp Ala Ala Ala
130	135	140	
Ile Phe Ser	Ala Leu Gly Ala	Thr Ile Ser Val	Ile Ile Asp Val Asp
145	150	155	160
Val Asn Ile	Ser Val Ile Val	Ser Ala Leu Ile	Ala Ile Leu Tyr Thr
165	170	175	
Leu Val Gly	Gly Leu Tyr Ser	Val Ala Tyr Thr	Asp Val Val Gln Leu
180	185	190	
Phe Cys Ile	Phe Ile Gly Leu	Trp Ile Ser Val	Pro Phe Ala Leu Ser
195	200	205	
His Pro Ala	Val Thr Asp Ile	Gly Phe Thr Ala	Val His Ala Lys Tyr
210	215	220	
Gln Ser Pro	Trp Leu Gly Thr	Ile Glu Ser Val	Glu Val Tyr Thr Trp
225	230	235	240
Leu Asp Asn	Phe Leu Leu Leu	Met Leu Gly Gly	Ile Pro Trp Gln Ala
245	250	255	
Tyr Phe Gln	Arg Val Leu Ser	Ser Ser Ser Ala	Thr Tyr Ala Gln Val
260	265	270	
Leu Ser Phe	Leu Ala Ala Phe	Gly Cys Leu Val	Met Ala Leu Pro Ala
275	280	285	



Ile Cys Ile Gly Ala	Ile Gly Ala Ser Thr Asp Trp Asn Gln Thr Ala
290	295 300
Tyr Gly Tyr Pro Asp Pro Lys Thr Lys Glu Glu Ala Asp Met Ile Leu	
305	310 315 320
Pro Ile Val Leu Gln Tyr Leu Cys Pro Val Tyr Ile Ser Phe Phe Gly	
	325 330 335
Leu Gly Ala Val Ser Ala Ala Val Met Ser Ser Ala Asp Ser Ser Ile	
	340 345 350
Leu Ser Ala Ser Ser Met Phe Ala Arg Asn Ile Tyr Gln Leu Ser Phe	
	355 360 365
Arg Gln Asn Ala Ser Asp Lys Glu Ile Val Trp Val Met Arg Ile Thr	
	370 375 380
Val Leu Val Phe Gly Ala Ser Ala Thr Ala Met Ala Leu Leu Thr Lys	
	385 390 395 400
Thr Val Tyr Gly Leu Trp Tyr Leu Ser Ser Asp Leu Val Tyr Ile Ile	
	405 410 415
Ile Phe Pro Gln Leu Leu Cys Val Leu Phe Ile Lys Gly Thr Asn Thr	
	420 425 430
Tyr Gly Ala Val Ala Gly Tyr Ile Phe Gly Leu Phe Leu Arg Ile Thr	
	435 440 445
Gly Gly Glu Pro Tyr Leu Tyr Leu Gln Pro Leu Ile Phe Tyr Pro Gly	
	450 455 460
Tyr Tyr Ser Asp Lys Asn Gly Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Pro Phe Lys	
	465 470 475 480
Thr Leu Ser Met Val Thr Ser Phe Phe Thr Asn Ile Cys Val Ser Tyr	
	485 490 495
Leu Ala Lys Tyr Leu Phe Glu Ser Gly Thr Leu Pro Pro Lys Leu Asp	
	500 505 510
Val Phe Asp Ala Val Val Ala Arg His Ser Glu Glu Asn Met Asp Lys	
	515 520 525
Thr Ile Leu Val Arg Asn Glu Asn Ile Lys Leu Asn Glu Leu Ala Pro	
	530 535 540
Val Lys Pro Arg Gln Ser Leu Thr Leu Ser Ser Thr Phe Thr Asn Lys	
	545 550 555 560
Glu Ala Leu Leu Asp Val Asp Ser Ser Pro Glu Gly Ser Gly Thr Glu	



565

570

575

Asp Asn Leu Gln

580



7

8

9

10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05545

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10 A61K38/17, A61K45/00, A61P25/28, G01N33/53,
A01K67/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10 A61K38/17, A61K45/00, A61P25/28, G01N33/53,
A01K67/027

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	Okuda T. et al., "Identification and characterization of the high-affinity choline transporter", Nal. Neurosci. (2000) Vol.3, No.2, pp.120-125	1-60, 62, 63
X	Knipper M. et al., "Purification and reconstitution of the highaffinity choline transporter", Biochimica et Biophysica Acta (1991) Vol.1065, No.2, pp.107-113	1-60, 62, 63
A	Andresen P. A. et al., "Molecular cloning, physical mapping and expression of the bet genes governing the osmoregulatorycholine-glycine betaine pathway of <i>Escherichia coli</i> ", Journal of General Microbiology (1988) Vol.134, No.6, pp.1737-1746	1-60, 62, 63
A	Pocard J-A. et al., "Molecular characterization of the bet genes encoding glycine betaine synthesis in <i>Sinorhizobium meliloti</i> 102F34", Microbiology (1997) Vol.143, No.4, pp.1369-1379	1-60, 62, 63

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 November, 2000 (10.11.00)

Date of mailing of the international search report
21 November, 2000 (21.11.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05545

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 61
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 61 pertains to diagnostic methods practiced on the human body and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10, A61K38/17, A61K45/00,
A61P25/28, G01N33/53, A01K67/027

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C12N15/12, C07K14/47, C12Q1/68, C07K19/00,
C07K16/18, C12N5/10, A61K38/17, A61K45/00,
A61P25/28, G01N33/53, A01K67/027

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	Okuda, T. et al. "Identification and characterization of the high-affinity choline transporter" Nal. Neurosci. (2000) Vol. 3 No. 2 P. 120-125	1-60, 62, 63
X	Knipper, M. et al. "Purification and reconstitution of the high affinity choline transporter" Biochimica et Biophysica Acta (1991) Vol. 1065 No. 2 P. 107-113	1-60, 62, 63

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行人若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 11. 00

国際調査報告の発送日

21.11.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

六笠 紀子

印

4B

9735

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Andresen, P. A. et al. "Molecular cloning, physical mapping and expression of the <i>bet</i> genes governing the osmoregulatory choline-glycine betaine pathway of <i>Escherichia coli</i> " Journal of General Microbiology (1988) Vol. 134 No. 6 P. 1737-1746	1-60, 62, 63
A	Pocard, J-A. et al. "Molecular characterization of the <i>bet</i> genes encoding glycine betaine synthesis in <i>Sinorhizobium meliloti</i> 102F34" Microbiology (1997) Vol. 143 No. 4 P. 1369-1379	1-60, 62, 63

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 61 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲61は、人の診断方法に係る発明であるから、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

